

Protočna sinteza (flow chemistry)

Diplomski studij
Primijenjena kemija

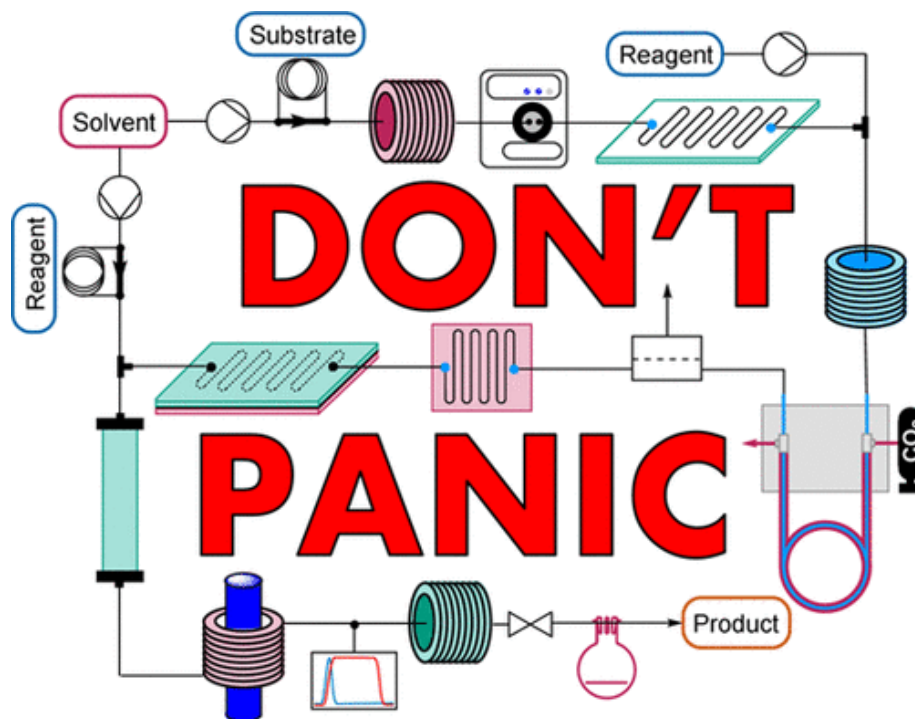
Prof. dr. sc. M. Hranjec
Zagreb, prosinac 2025.

Protočna sinteza

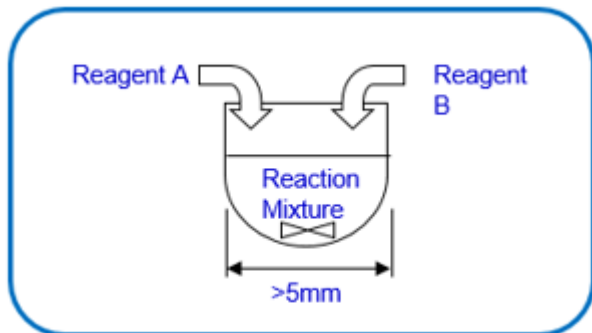


Protočna sinteza

- reagensi se kontinuirano pumpaju kroz reaktor i produkt se kontinuirano prikupljaju
- uključuje **korištenje kanala ili cijevi za provođenje reakcije u kontinuiranom toku**, a ne u tikvici
- razvoj automatiziranih procesa s povećanom učinkovitošću
- neki sintetski stupnjevi koji se ne smiju izvoditi zbog sigurnosti mogu se provesti protočnom kemijom s minimalnim rizikom



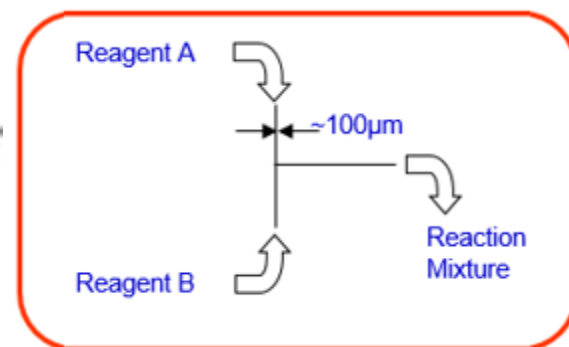
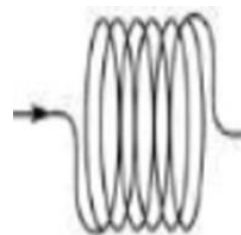
Šaržna (batch) vs protočna (flow) kemija



- **klasičan način provođenja reakcija**
- reagensi se dodaju u reaktor, miješaju i ostavljaju reagirati
- produkti se skupljaju na kraju, nakon što je reakcija završena i obrađena

Ključni čimbenici:

- koncentracija
- miješanje
- temperatura
- vrijeme reakcije



- **reagensi se kontinuirano pumpaju u protočni reaktor**
- reagensi se miješaju i reagiraju u protočnom reaktoru
- produkt kontinuirano napušta reaktor

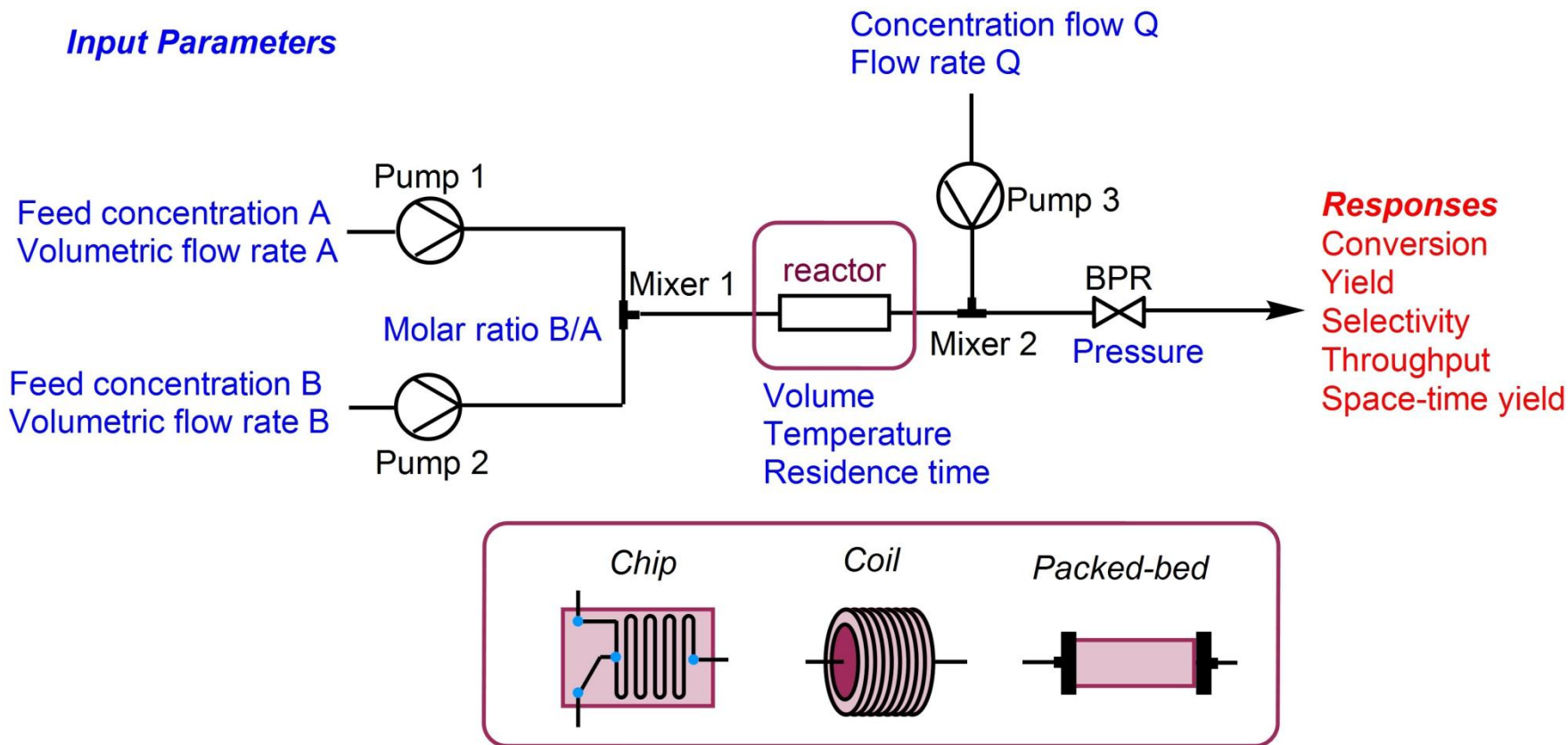
Ključni čimbenici:

- vrijeme zadržavanja (protočni omjer)
- miješanje
- tlak
- temperatura

Protočna sinteza

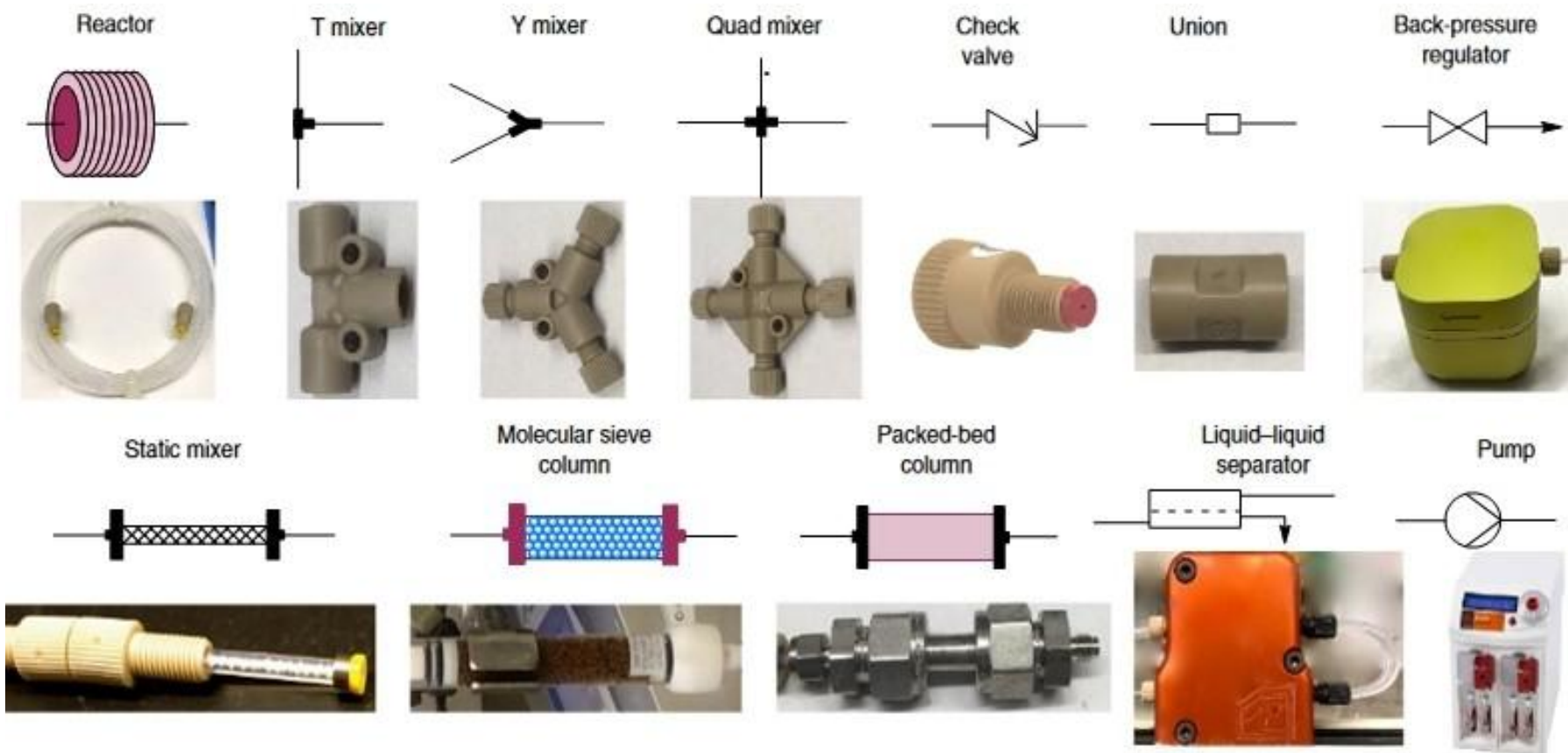
- parametri u optimizaciji kemijskih procesa: **tlak, temperatura, vrijeme reakcije, koncentracija početnih materijala**

Input Parameters



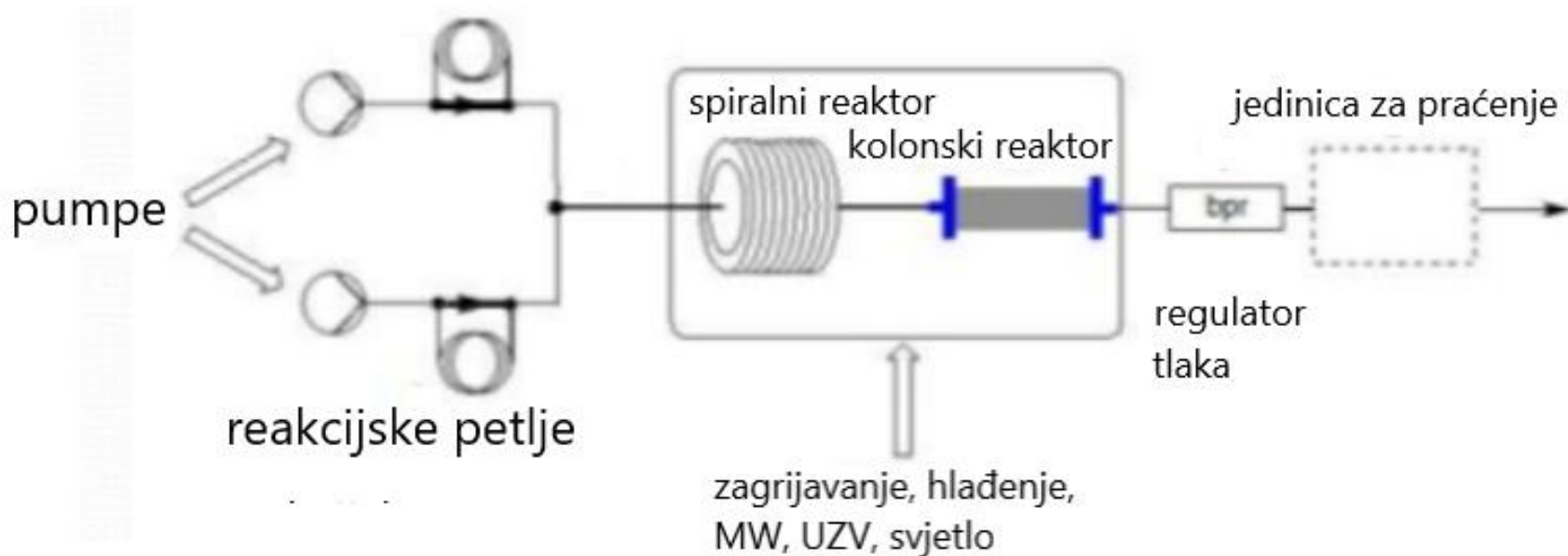
Instrumentacija u protočnoj sintezi

■ tipični dijelovi korišteni u protočnoj sintezi



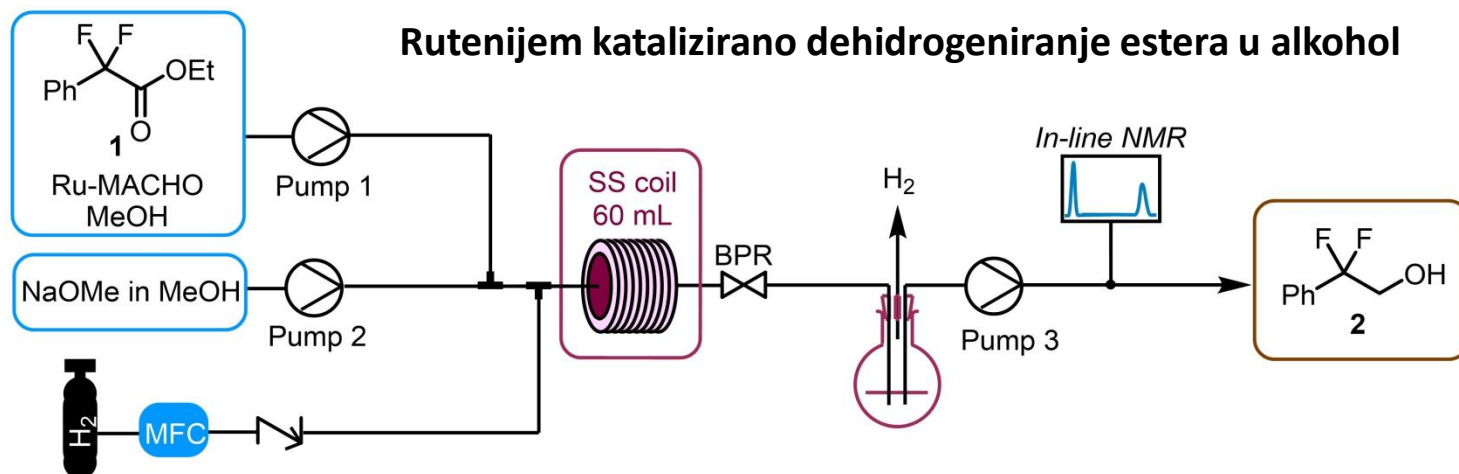
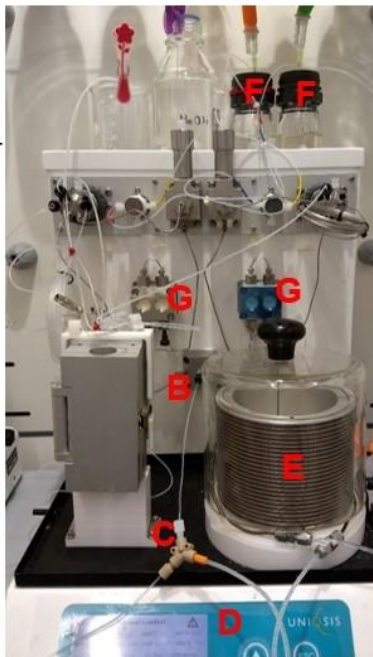
Instrumentacija u protočnoj sintezi

- **pumpe** – osiguravaju potrebnu količinu otapala i reagensa; peristaltičke, syringe, centrifugalne
- **reakcijske petlje** – za uvođenje malih volumena reagensa
- **spiralni reaktor** – osigurava vrijeme zadržavanja reakcije
- **kolonski reaktor** – može biti punjen krutim reagensom, katalizatorom
- **regulator tlaka** - kontrola tlaka u sustavu
- **jedinica za praćenje** – analitičke tehnike (MS, HPLC, FTIR, NIR) i sl.



Instrumentacija u protočnoj sintezi

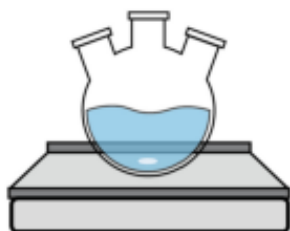
- A = MFC
- B = Arrow-shaped mixer with pressure sensor
- C = Y-shaped three-way connector
- D = Control panel
- E = Stainless-steel reactor
- F = Feeds
- G = HPLC pumps (incorporated in FlowSyn)
- H = HPLC pump
- I = BPR
- J = Gas/liquid separator
- K = Check valve
- L = Benchtop NMR



Instrumentacija u protočnoj sintezi

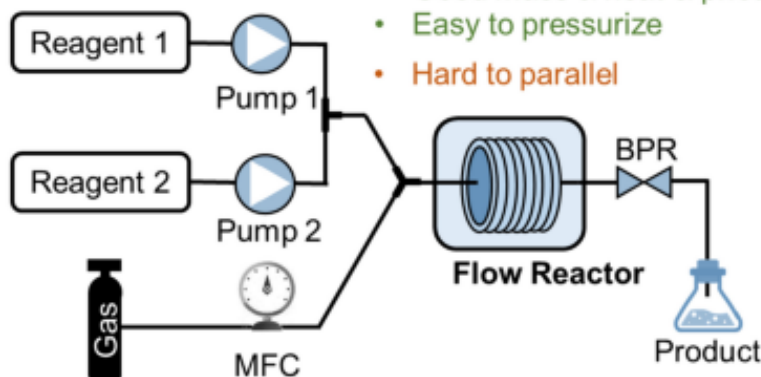
- **tradicionalni šaržni procesi** - fleksibilnost za širok raspon reakcija i još uvijek su najčešći odabir za različite reakcije
- **mikroreaktori** – za reakcije pod visokim tlakom, fotokemijske reakcije ili reakcije u ekstremnim uvjetima

A) Batch Reactor

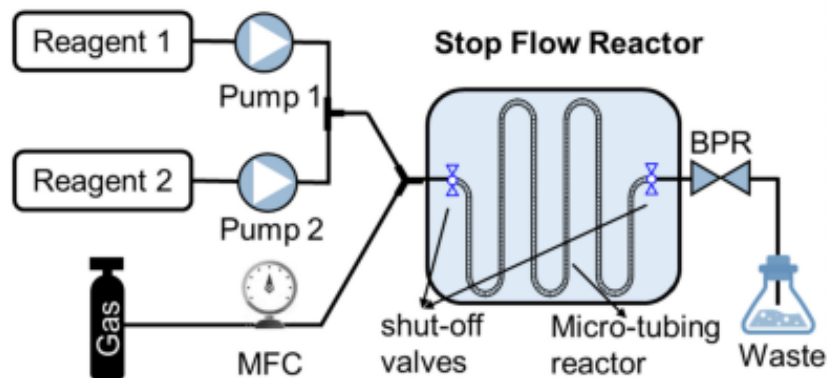


- Parallel set-up
- Low mass & heat & photon transfer
- Hard to pressurize

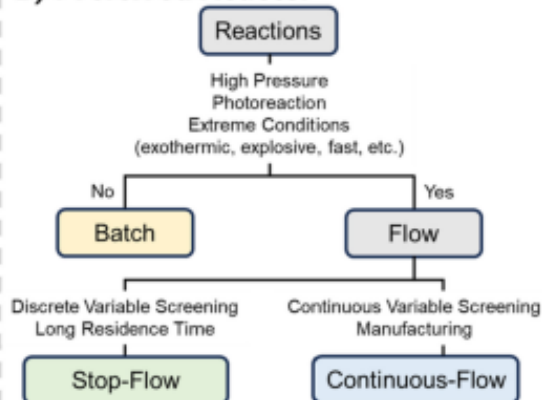
B) Flow Reactor



C) Stop-flow Micro-tubing Reactor



D) Preferred Reactor



Protočna sinteza

- **tehnologija mikroreaktora** - jedinstveni način izvođenja ultrabrzih, egzotermnih reakcija
- omogućuje izvođenje kemija koje se odvijaju preko vrlo nestabilnih ili čak eksplozivnih međuproizvoda
- razne sintetske transformacije i eksperimentalne tehnike
- ukupna sigurnost procesa značajno je poboljšana, čak i kada se primjenjuju oštri reakcijski uvjeti

Flow Chemistry at CCFLOW –
Scalability and Manufacturability (CoG/Sustainability)

Flash Chem



High-T/p



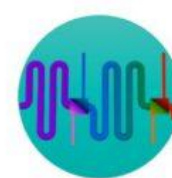
Gas-Liquid



Catalysis



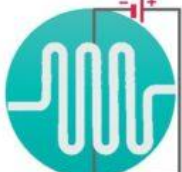
Multi-step/APIs



Photochem



Electrochem



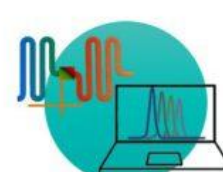
Water Chem



Mechanochem

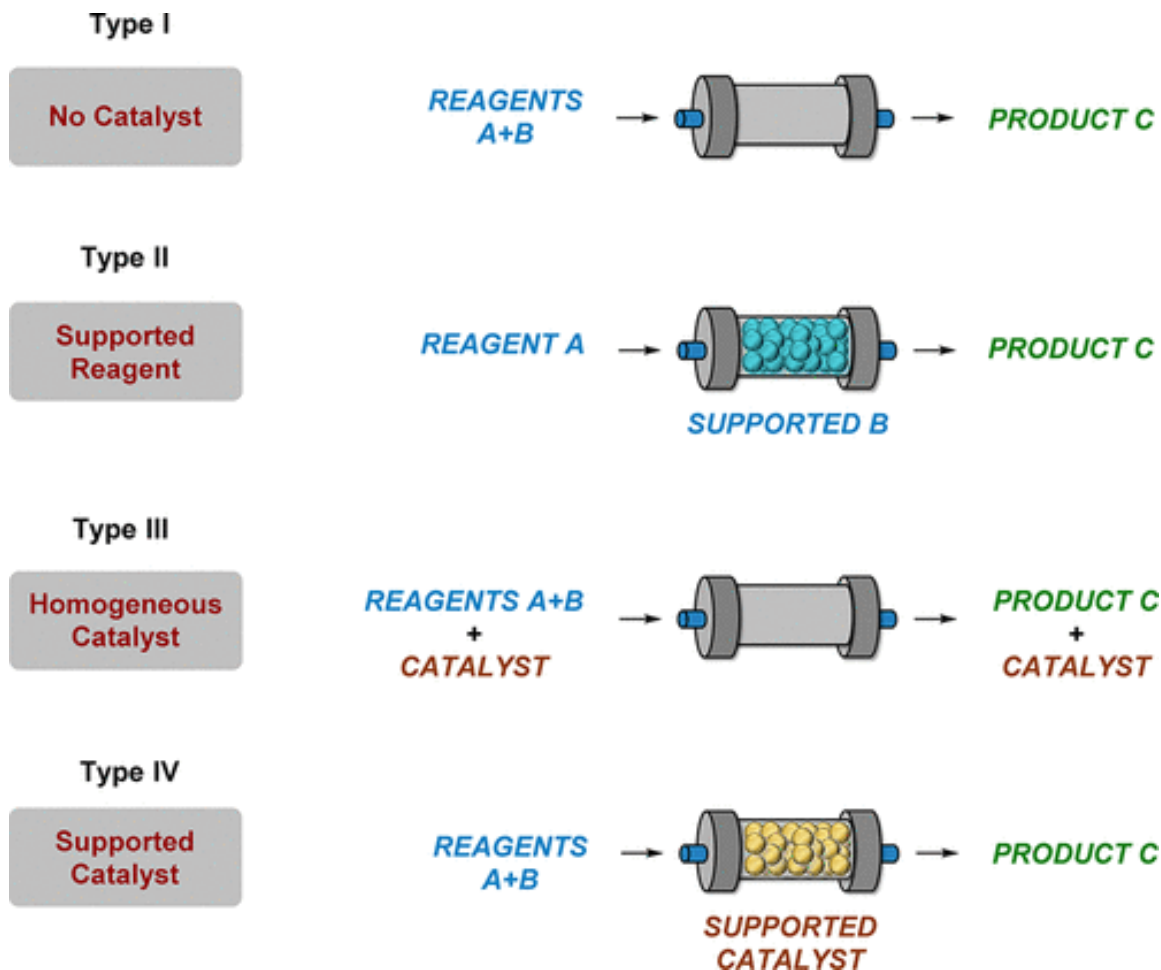


Digitalization



Vrste protočnih reaktora

- nekatalitičke reakcije, reakcije na krutom nosaču, homogena kataliza i kataliza na krutom nosaču
- različite kemijske reakcije



Najčešće vrste protočnih reaktora

- komercijalno dostupni protočni sustavi



Gas reactor
(<http://www.cambridgereactordesign.com/>)



Trickle bed reactor
(<http://www.helgroup.com/>)



Microchip reactor unit
(<http://www.chemtrix.com/>)



Syringe pumps
(<http://syrris.com/>)



Gas reactor platform
(<http://www.thalesnano.com/>)



Reaction platform
(<http://www.uniqsis.com/>)



Cryogenic reactor unit
(<http://www.cambridgereactordesign.com/>)



Reaction platform
(<https://www.vapourtec.com/>)



Reaction platform
(<http://www.amtechuk.com/>)

Primjeri reakcija protočne kemije

Općenite reakcije

- aldolna reakcija
- eliminacija alkohola do alkena
- esterifikacija
- Wittigova reakcija
- nukleofilne aromatske supstitucije
- SN1 reakcija
- N-alkiliranje

Homogena kataliza

- Suzuki reakcija
- Heckova reakcija

Višekomponentne reakcije

- Passerini 3CR
- Biginelli 3CR
- Ugi 4CR

Uklanjanje zaštitnih skupina

- BOC
- MOM
- otvaranje epoksida
- saponifikacija

Stvaranje prstena

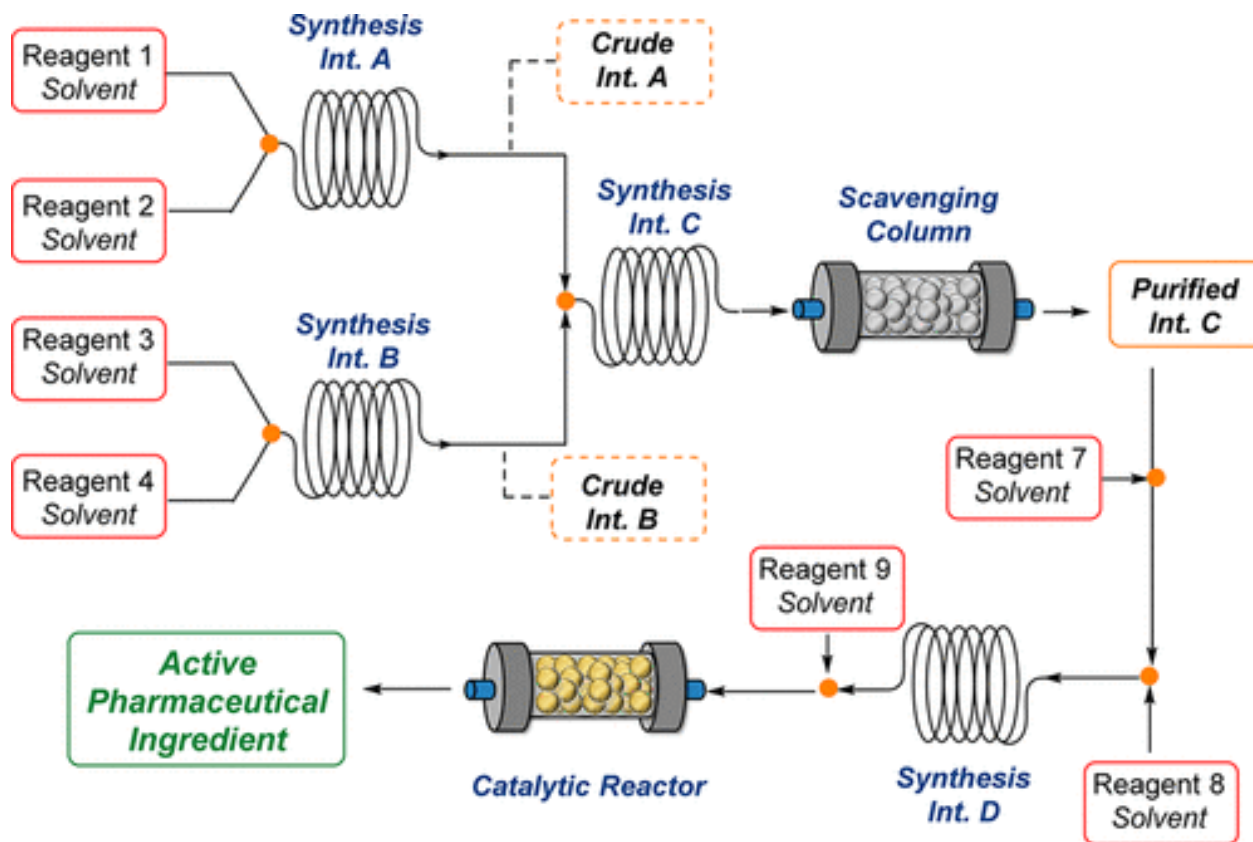
- Ugi
- Diels-Alder
- Fischerova sinteza indola
- sinteza pirazola

Oksidacije i redukcije

- redukcija borhidridom
- redukcija heterocikala boranima
- reduktivna eliminacija

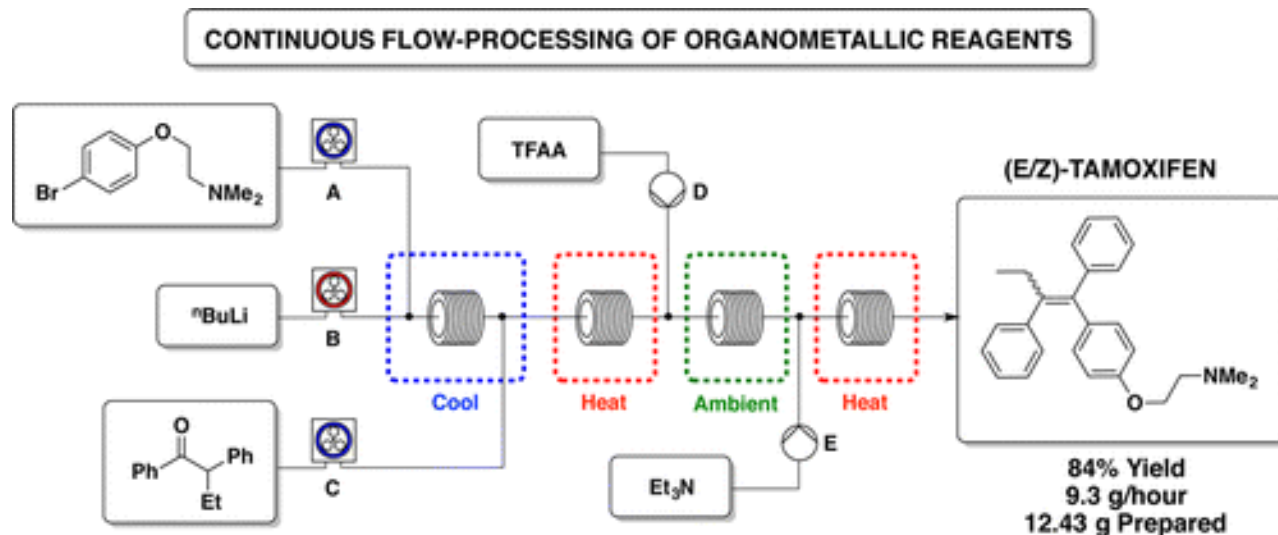
Farmaceutska industrija - protočna kemija

- još se uvijek većinom koristi šaržna sinteza
- **sve više raste interes za protočnu kemiju**, pogotovo za sintezu visokofunkcionalnih organskih molekula ili kiralnih molekula
- kombiniranje s drugim tehnologijama - mikrovalno zračenje, reakcije na krutom nosaču, ili katalitičke reakcije, fotokemija, indukcijsko grijanje, elektrokemija, novi sustavi otapala, 3D ispis ili mikroreaktorska tehnologija

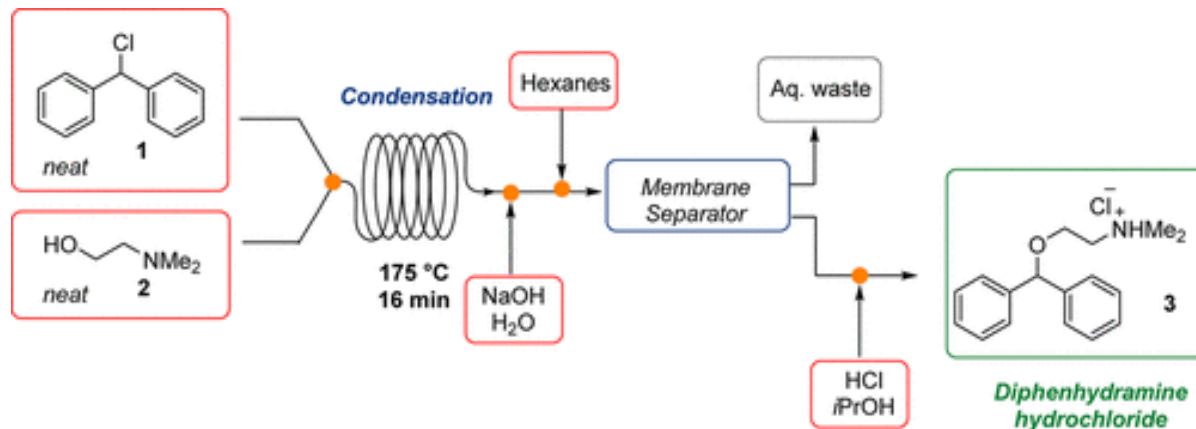


Farmaceutska industrija - protočna kemija

- upotreba nove metode, temeljene na fluoropolimernim peristaltičkim pumpama, idealnim za rad s vrlo reaktivnim i na zrak osjetljivim spojevima - organolitijevi Grignardovi reagensi

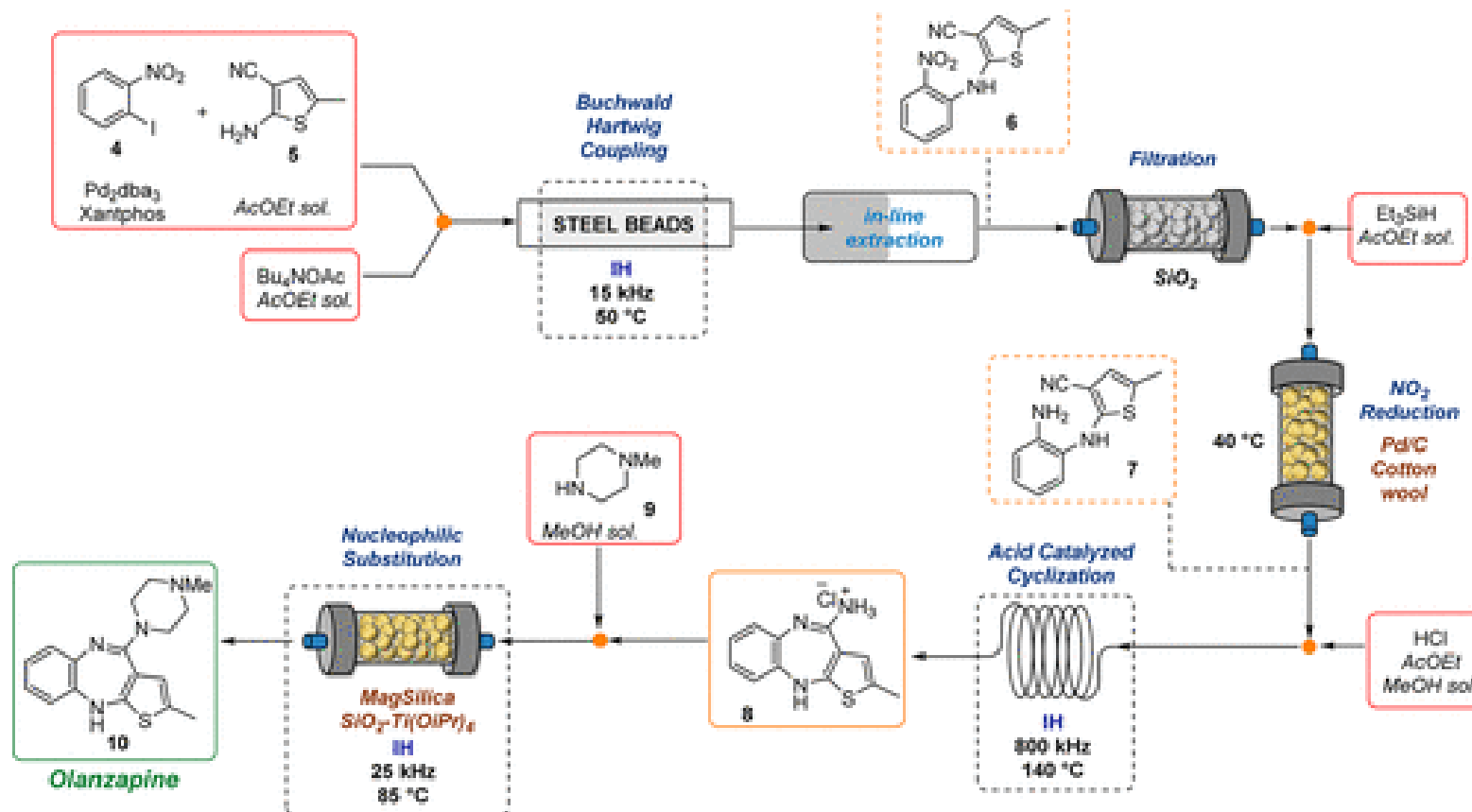


- smanjen broj sintetskih koraka, pročišćavanje i ukupni otpad reakcije
- difenhidramin-hidroklorid** – API u nekoliko lijekova ; više od 100 tona godišnje



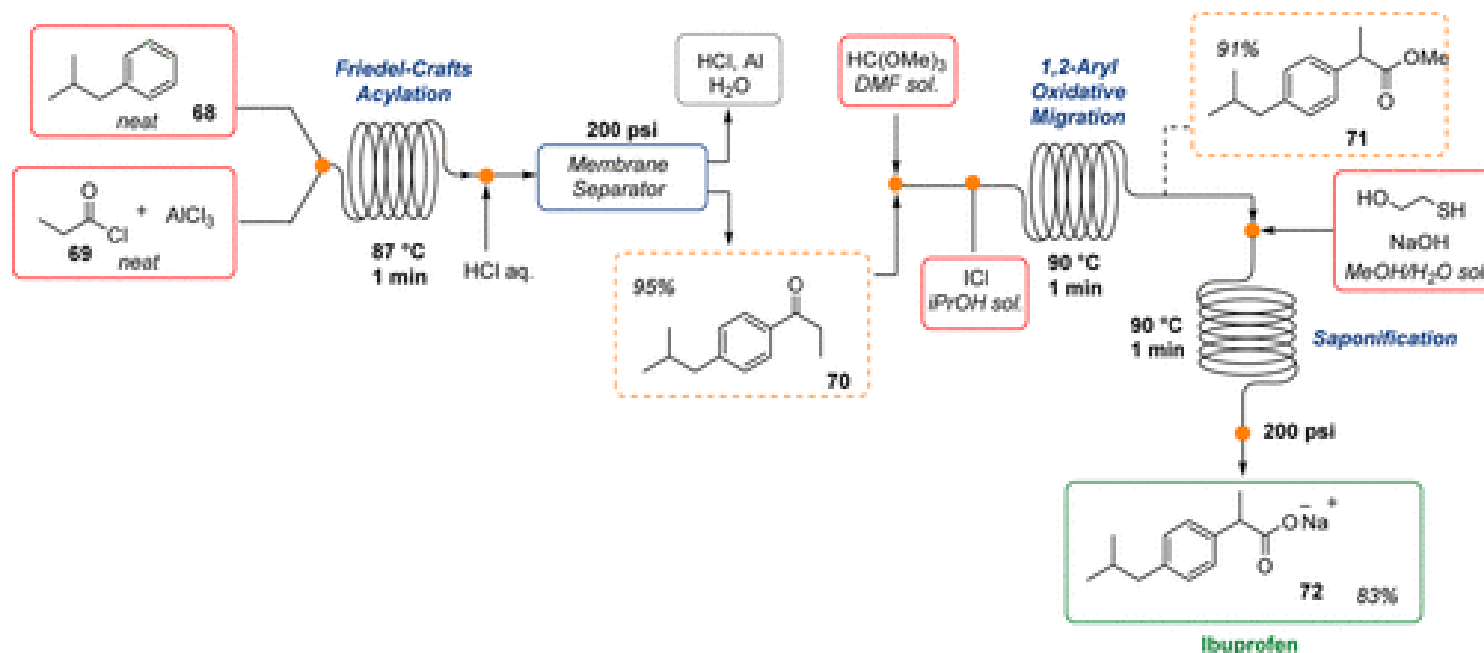
Farmaceutska industrija - protočna kemija

- **olanzapin** – lijek za liječenje šizofrenije i bipolarnog poremećaja
- korišteno induktivno zagrijavanje – značajno je smanjeno vrijeme reakcije i povećana učinkovitost procesa



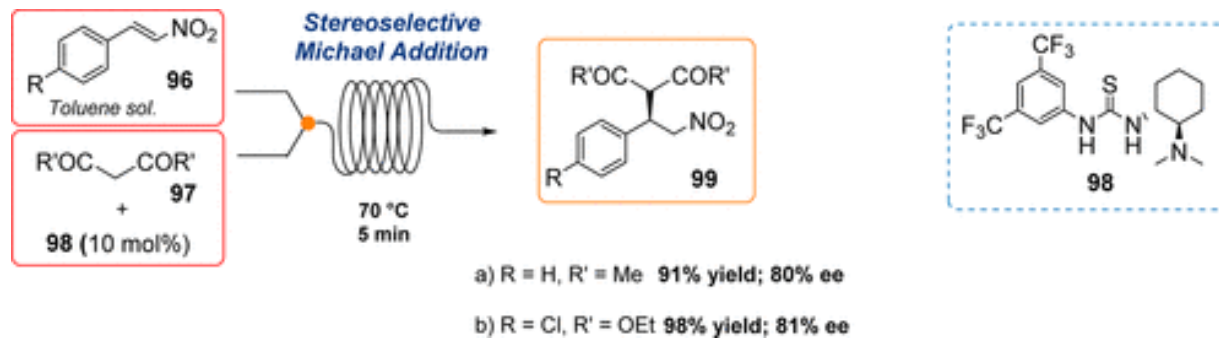
Farmaceutska industrija - protočna kemija

- **ibuprofen** – priređen za samo 3 minute
- sinteza počinje od vrlo jednostavnih i jeftinih reaktanata
- 3 koraka u kojima se stvaraju kemijske veze, jedna obrada reakcijske smjese i jedna ekstrakcija
- Iako su korištene visoko reaktivne kemikalije i žestoki reakcijski uvjeti, ova metodologija osigurava visoku razinu sigurnosti procesa

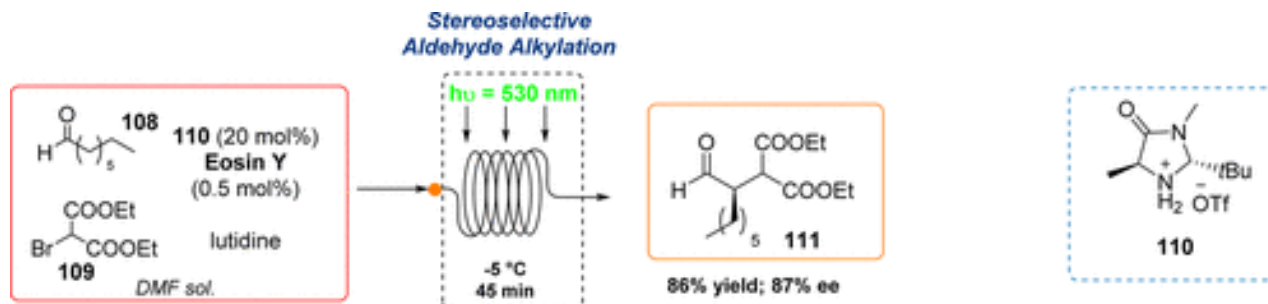


Kemijske reakcije - protočna kemija

- **enantioselektivna Michaelova adicija**
- korištenje kiralnog bifunkcionalnog katalizatora
- nakon 5 minuta nastaju produkti u dobrom iskorištenju

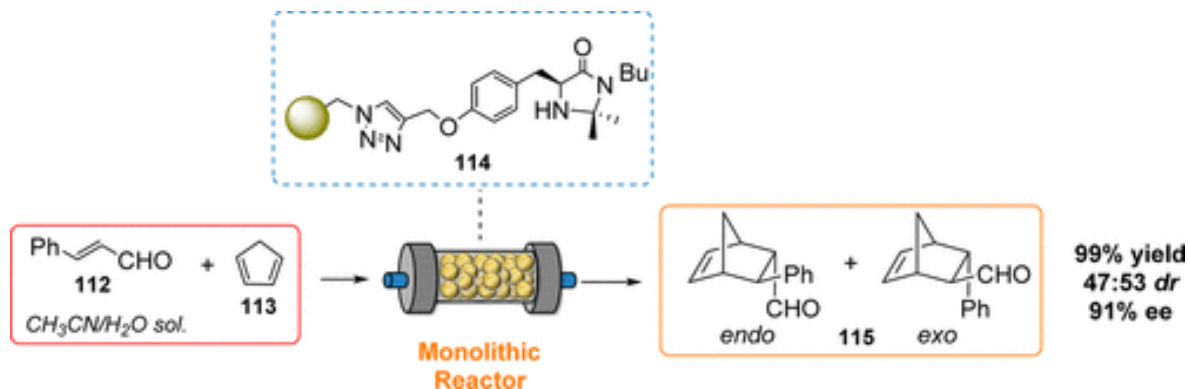


- **stereoselektivno alkiliranje aldehida**
- korištenje istovremeno stereoselektivne katalize i fotokatalize
- protočni sinergijski proces alkiliranja aldehida s brom-malonatom
- visoka enantioselektivnost i kraće vrijeme trajanja reakcije

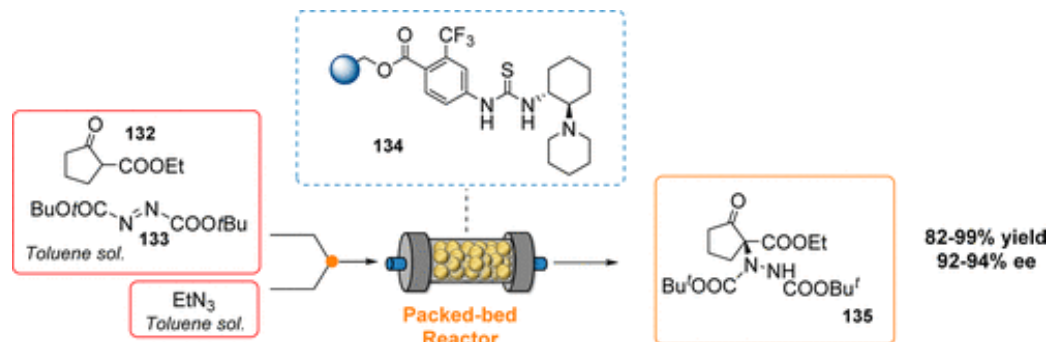


Kemijske reakcije - protočna kemija

- **stereoselektivne cikloadicija**
- prvi primjer organomonolitickog protočnog reaktora
- katalizator je imobiliziran u monilitickom reaktoru
- veća tolerancija na velike brzine protoka i učinkovit prijenos mase kroz njihove velike i male pore, omogućujući veće povratne pritiske



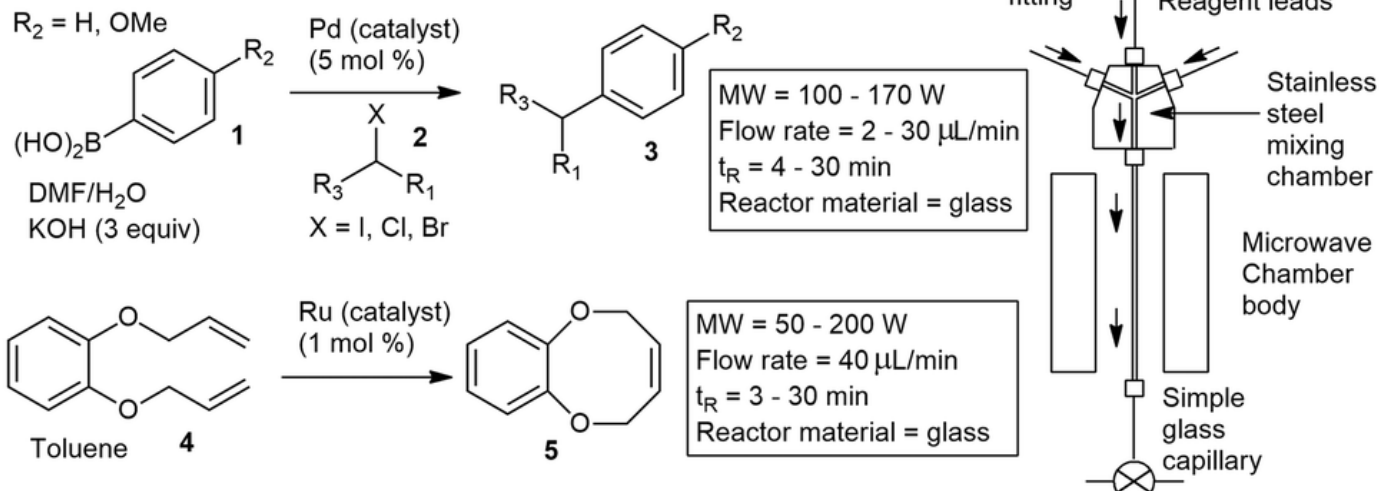
- **stereoselektivne α -aminacije 1,3-dikarbonilnih spojeva**
- dvije različite tiouree nanosene na smolu Merrifield, jedna nosi triazolnu jezgru a jedna bez poveznice



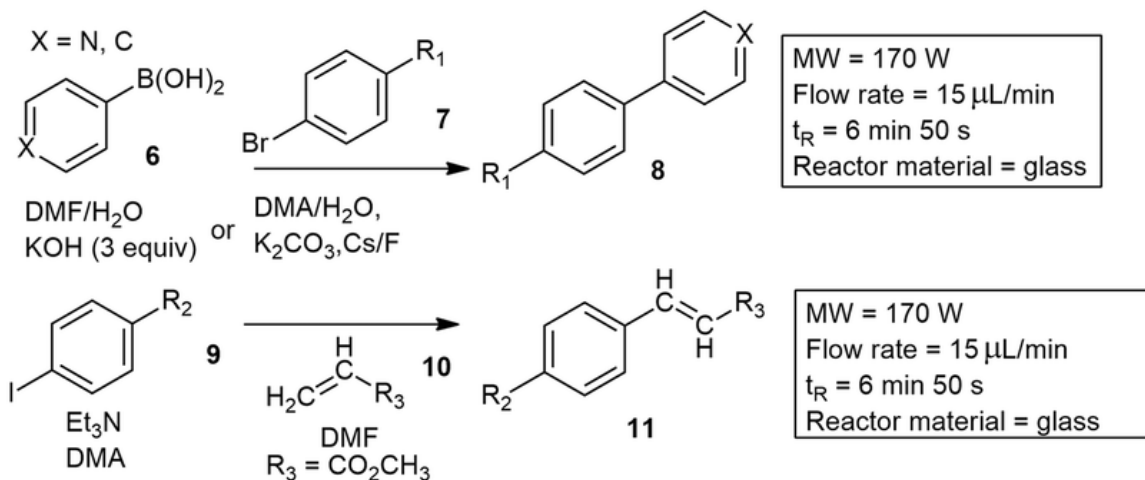
Kemijske reakcije - protočna kemija

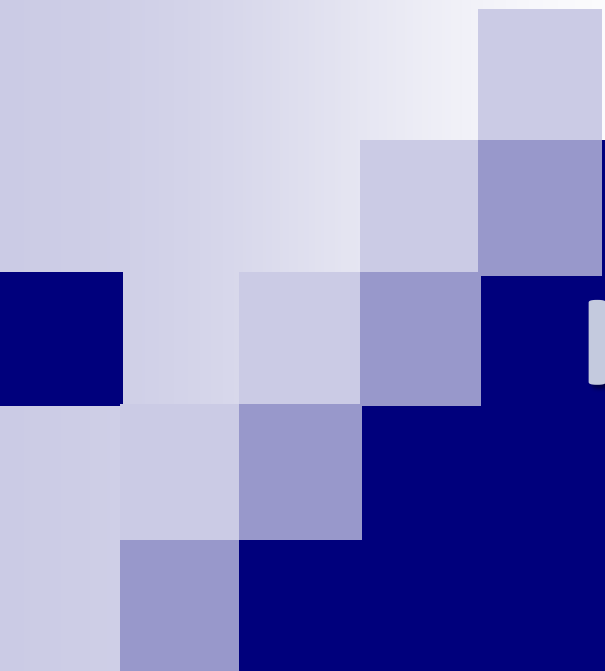
■ mikrovalovima potpomognuta protočna kemija

Ring closing metathesis (Organ *et. al.* 2005):



SNAr cross-coupling reactions (Organ *et. al.* 2007):





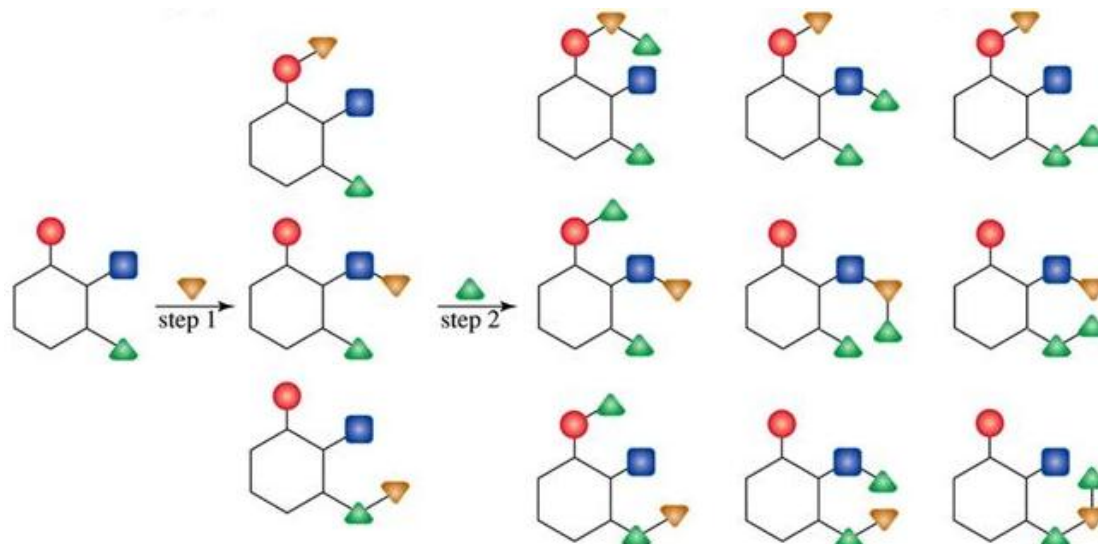
Kombinatorna kemija i paralelne sinteze

Diplomski studij
Primijenjena kemija

Prof. dr. sc. M. Hranjec
Zagreb, studeni 2025.

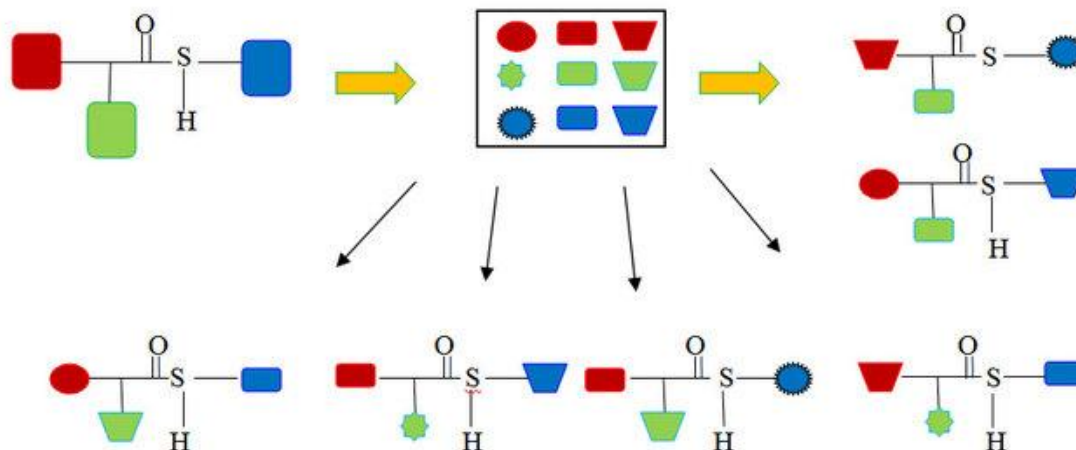
Kombinatorna kemija i paralelne sinteze

- smisleno kreiranje velikog broja ("biblioteke") malih molekula koje se testiraju *in vitro* kao potencijalni lijekovi



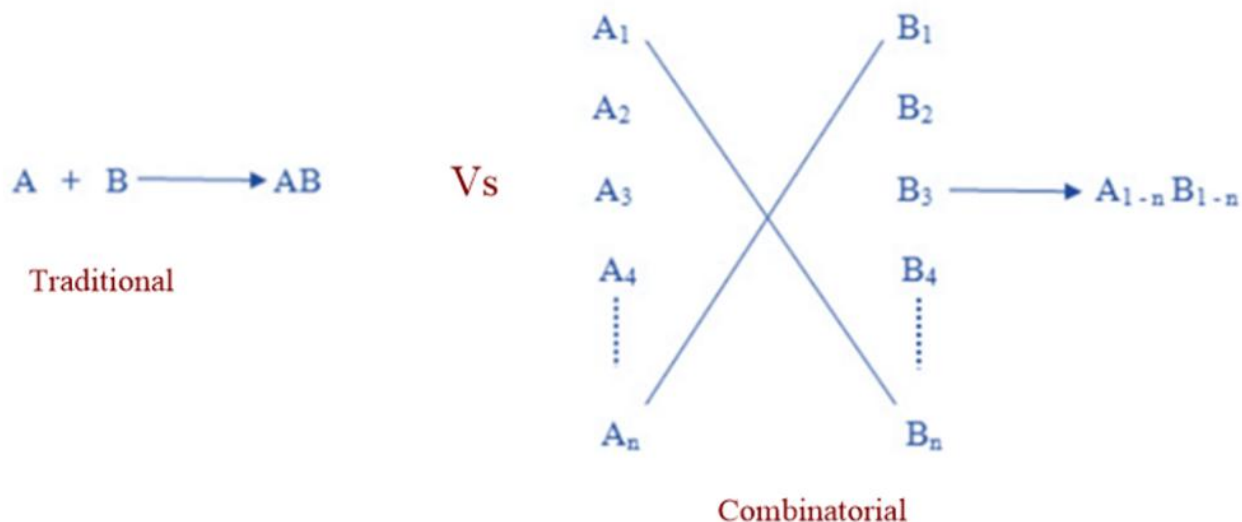
Prednosti

- u kratkom vremenu pripravi se veliki broj spojeva
- niži troškovi
- velike biblioteke bioaktivnih predvodnih spojeva



Kombinatorna kemija i paralelne sinteze

- umjesto provođenja višestrukih reakcija tipa $A + B$, kombinatorna tehnika omogućuje pokrivanje mnogih mogućnosti $A_n + B_n$ u jednoj reakciji
- **kombinatorni postupci iznimno su raznoliki**
- produkti se mogu stvarati pojedinačno ili u mješavinama, korištenjem procesa u otopini ili u čvrstoj fazi
- produktivnost je iznimno visoka
- **temeljni koncept kombinatorne kemije** - proizvesti veliki broj različitih spojeva u isto vrijeme te identificirati vodeći spoj za daljnji razvoj



Osnovne tehnike kombinatorne kemije

Sinteza na čvrstoj fazi (solid phase synthesis)

- vezanje reaktanata na polimernu površinu i njihovu modifikaciju dok su još **tamo**; nakon sinteze oslobađa se konačni proizvod
- filtriranje se koristi kao proces odvajanja i pročišćavanja
- srž je **izravna eliminacija nepoželjnih tvari filtriranjem**
- kao čvrsta faza koriste se zrnca supstituirane smole
- matrica slična gelu povezanih polimernih molekula rastegnutih molekulama otapala

PREDNOSTI:

- reaktanti se mogu povezati s određenim kuglicama
- kuglice se mogu kombinirati i reagirati u istoj reakcijskoj posudi
- generirani proizvodi jedinstveni su za svako zrno i fizički različiti
- višak reagensa i nusproizvoda može se jednostavno eliminirati
- budući da su međuprodukti reakcije vezani na kuglicu, ne moraju se odvajati i pročišćavati
- pojedinačne kuglice mogu se odvojiti kako bi se izolirali određeni proizvodi
- nakon cijepanja proizvoda, polimerna podloga se može regenerirati i ponovno upotrijebiti

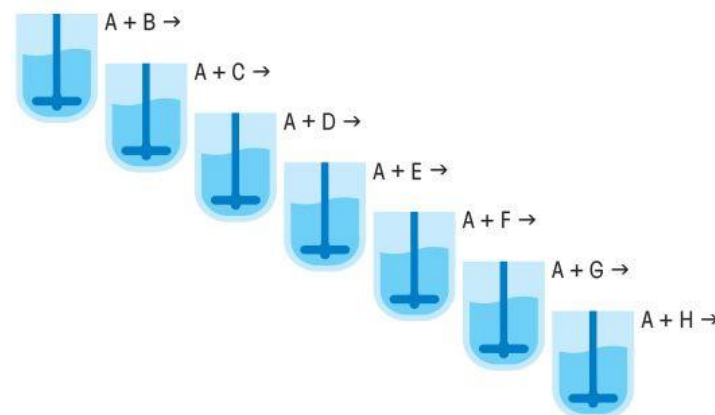
Osnovne tehnike kombinatorne kemije

Paralelna sinteza

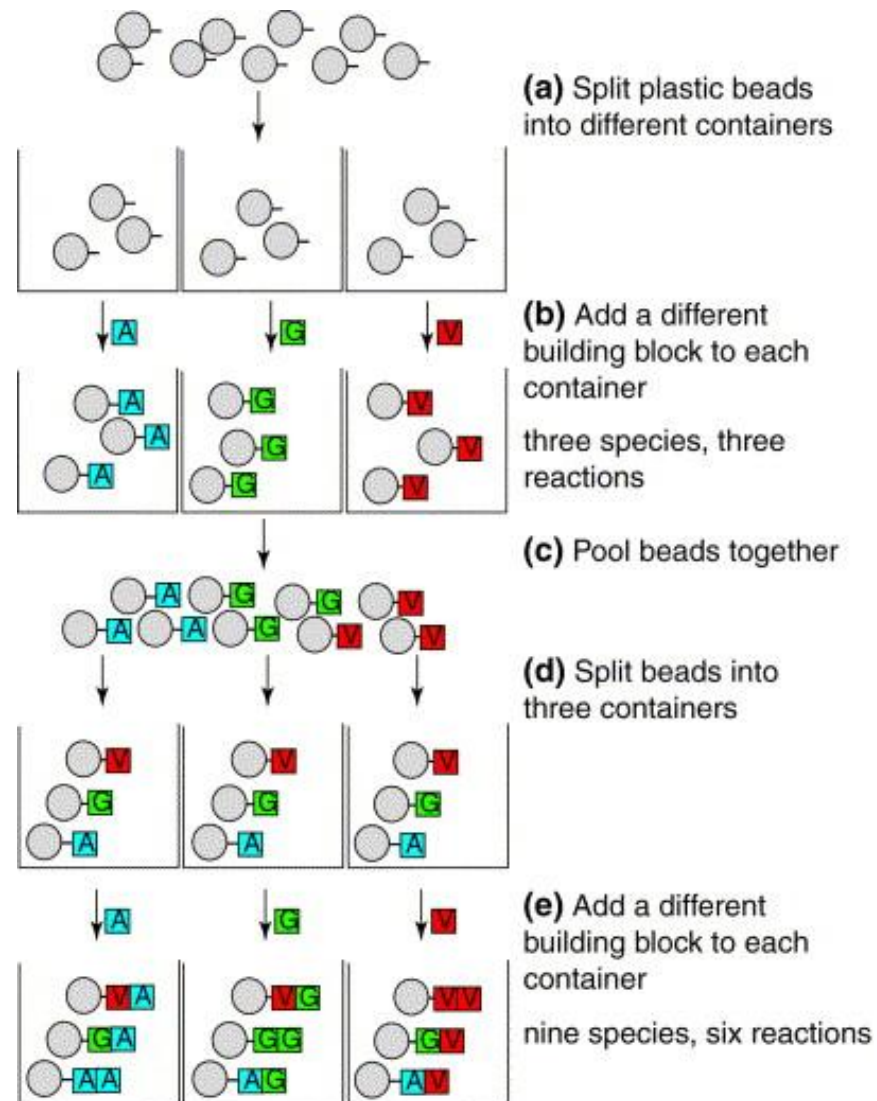
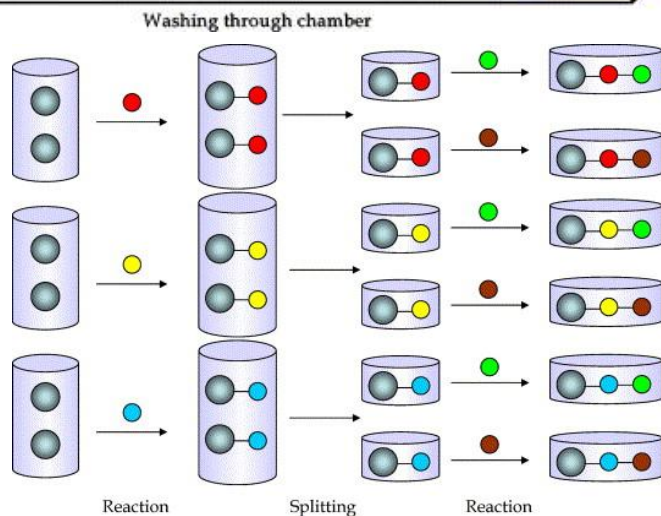
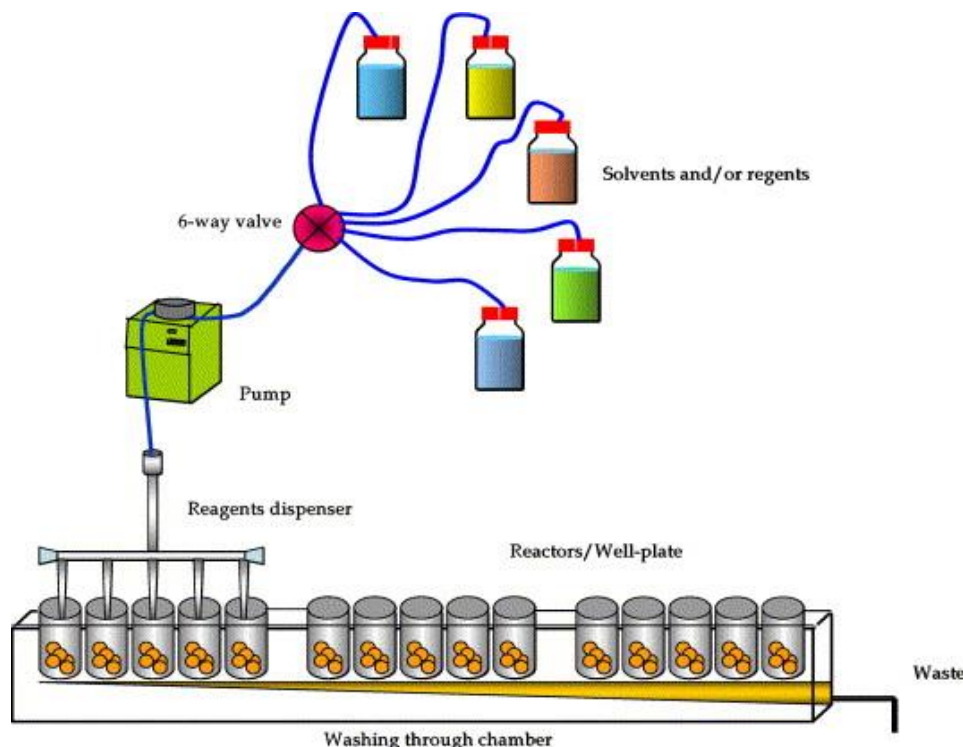
- generiranje kombinatornih biblioteka sastavljenih od pojedinačnih molekula
- nije prikladno za stvaranje biblioteka koje sadrže tisuće do milijune spojeva
- uključuje pripremu produkata u različitim reakcijskim posudama u isto vrijeme, tj. paralelno
- proces se odvija na takozvanim plastičnim 'krunicama' postavljenim na vrhove pribadača, s građevnim blokovima pričvršćenim na te krunice poveznicama sličnim onima koje nalazimo na kuglicama smole
- položaj svakog sintetičkog puta u nizu, a time i struktura produkta tog puta, obično se označava **mrežnim kodom**

PREDNOSTI:

- svaki spoj stvara se u jednoj posudici
- **identifikacija produkata je već poznata**
- struktura spoja određena je njegovim definiranim položajem
- **jednostavnija je biološka analiza**

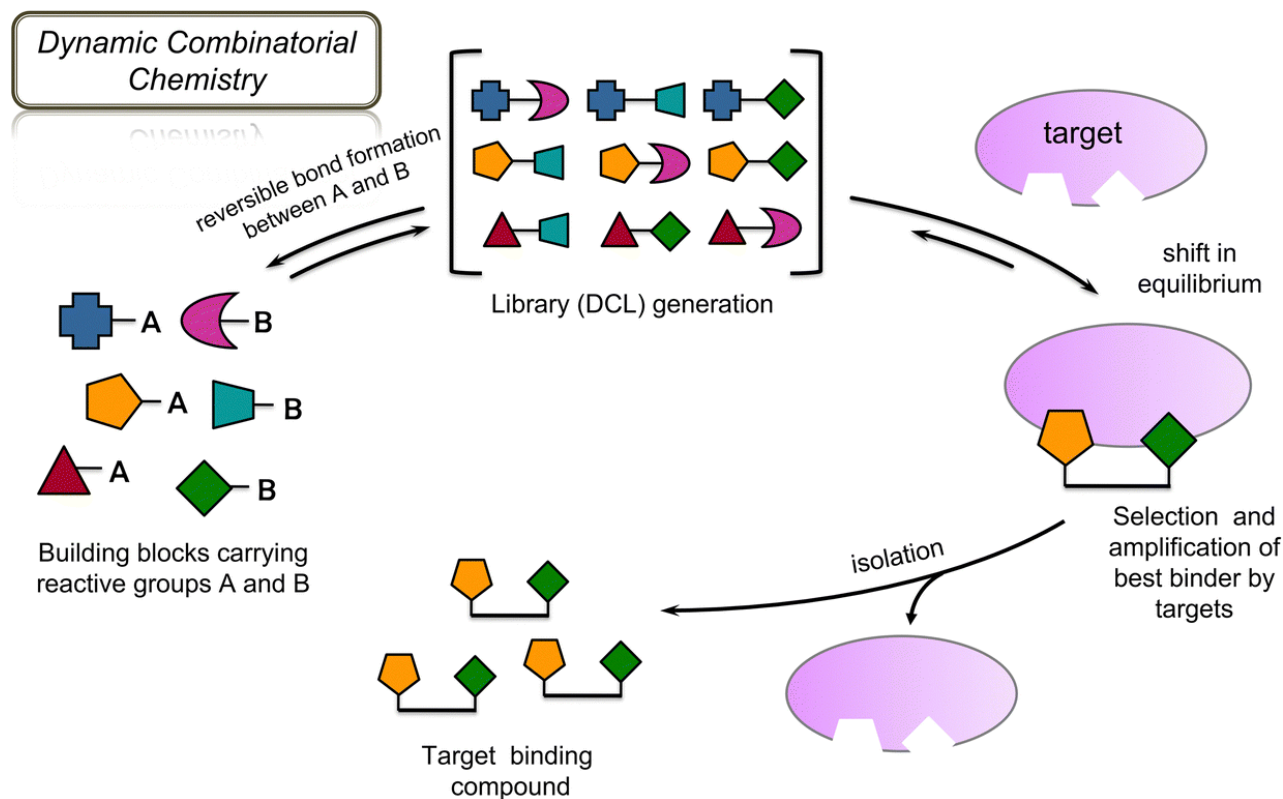


Paralelna kombinatorna sinteza



Dinamička kombinatorna kemija

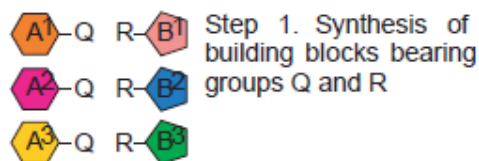
- razvoj najpogodnijih spojeva za interakciju s biološkim metama
- kombinatorna kemija kontrolirana termodinamičkim parametrima
- generiranje **dinamičke kombinatorne biblioteke (DCL)** kroz reverzibilnu razmjenu različitih građevnih jedinica koje nose reaktivne skupine
- ravnotežno kontrolirana biblioteka spojeva
- izbjegnuta sinteza velikog niza molekula jer **meta sama odabire optimalne parametre** iz dinamičke kombinatorne biblioteke



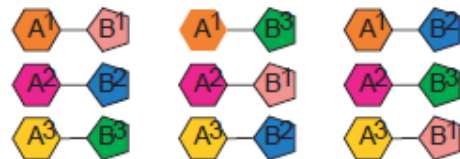
Usporedba kombinatornih metoda

- mnogobrojni inhibitori pronađeni su dinamičkom kombinatornom kemijom – vrlo efikasna metoda u razvoju vodećih spojeva za teške biološke mete
- **dodavanje biološke mete u biblioteku** izaziva veliki pomak u ravnoteži i povećava broj molekula koje pokazuju veliki afinitet za tom metom

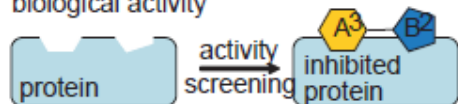
Conventional lead discovery



Step 2. Transformation of building blocks in combinatorial libraries. Building blocks A are connected to building blocks B in each possible combination, purified and characterised

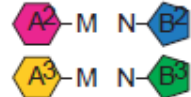


Step 3. Identification of hit compound via high-throughput screening methods. Each individual compound is tested for biological activity

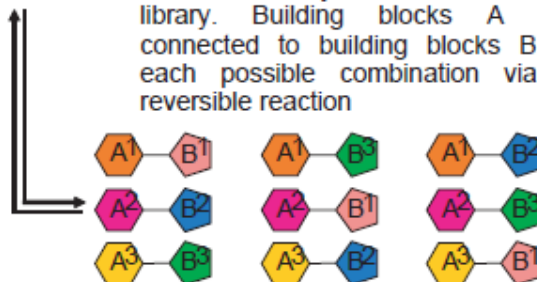


Dynamic combinatorial chemistry

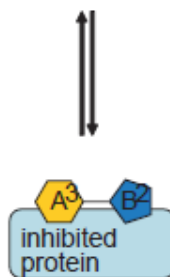
Step 1. Synthesis of building blocks bearing reactive groups M and N



Step 2. Transformation of building blocks in a dynamic combinatorial library. Building blocks A are connected to building blocks B in each possible combination via a reversible reaction

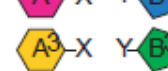


Step 3. Incubation of dynamic combinatorial library with biological target shifts the equilibrium toward the compounds with the strongest affinities

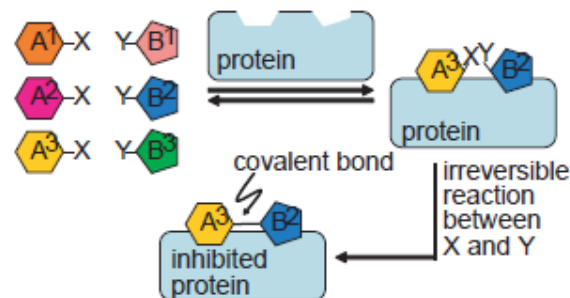


In situ click chemistry

Step 1. Synthesis of building blocks bearing reactive groups X and Y

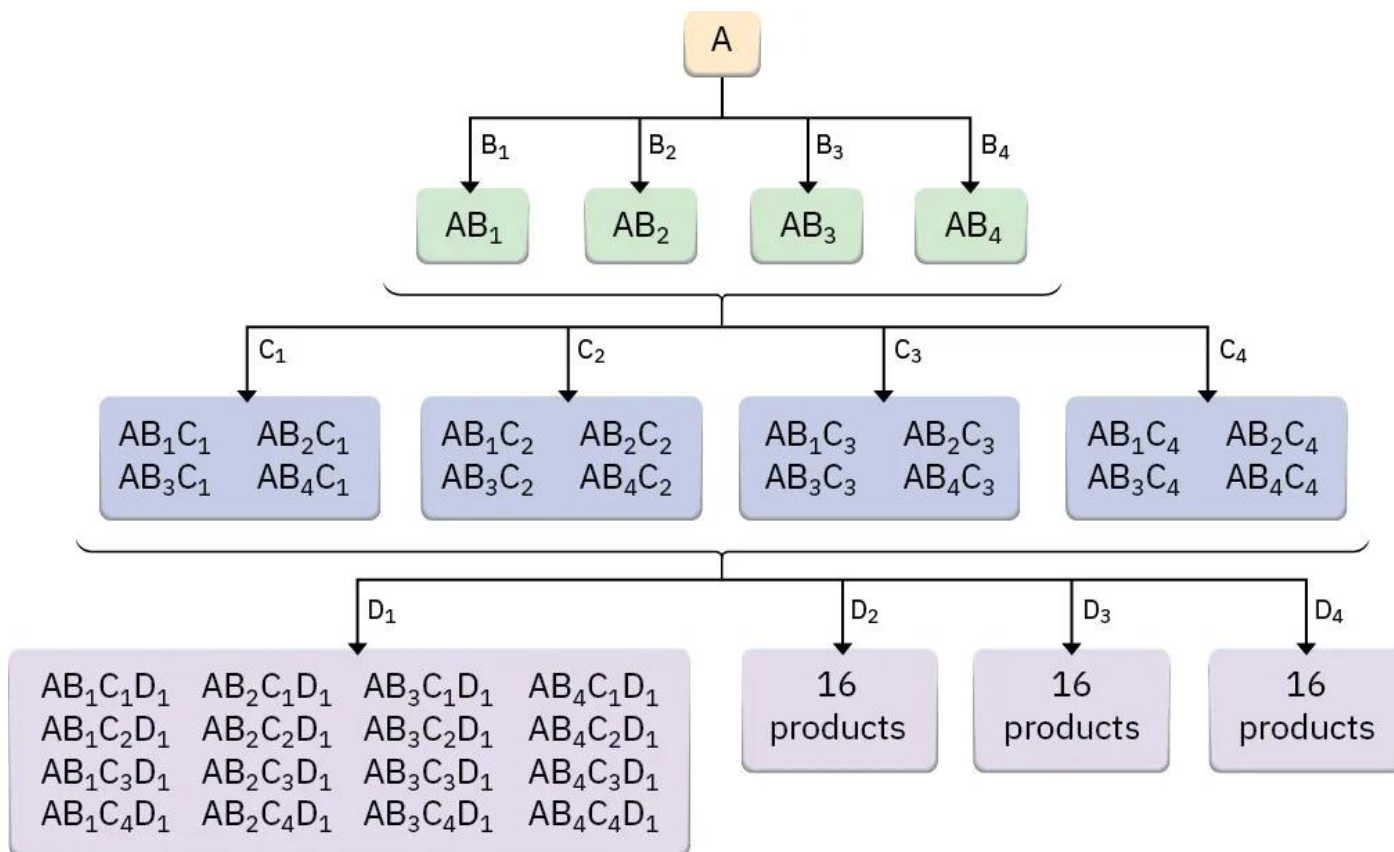


Step 2. Incubation of building blocks with the target protein. The protein binds initially the building blocks with the highest affinity. The enforced propinquity of the groups X (N_3) and Y ($C\equiv C-H$) accelerates the irreversible reaction with each other resulting in the formation of a covalent bond (triazole) between the two building blocks. The newly generated biligand molecule shows higher affinity compared with corresponding monovalent building blocks



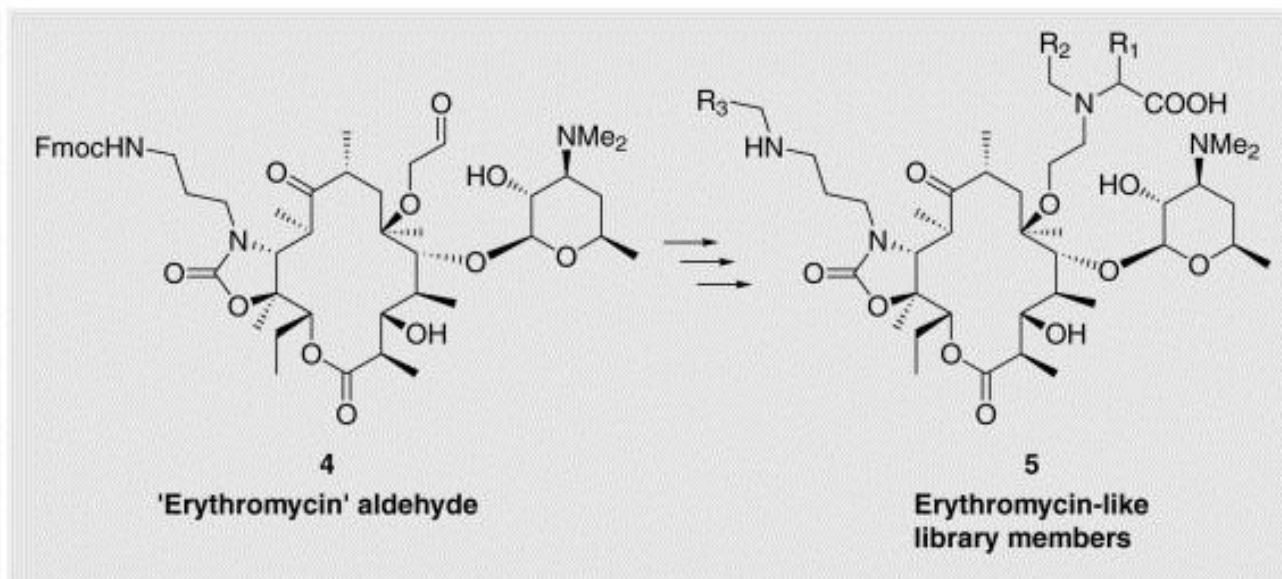
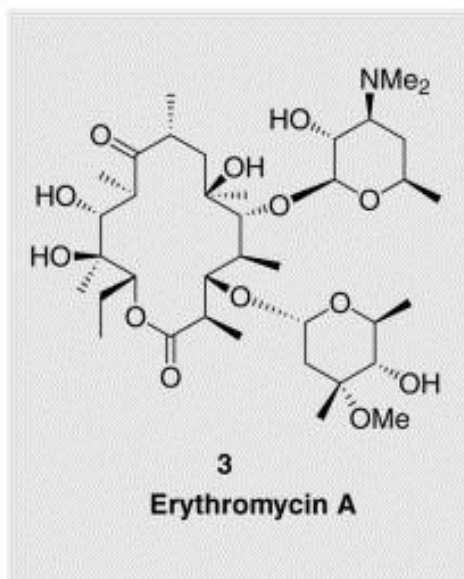
Primjeri kombinatornih sinteza

- pod pretpostavkom da se u svakom koraku koriste 4 različita sastavna bloka, nakon 3 koraka dobiju se 64 spoja, **a nakon 10 koraka više od milijun spojeva**
- početni reaktant ponovno je vezan na površinu polimernih kuglica, koje se zatim dijele u nekoliko skupina; različiti sastavni blok dodaje se svakoj grupi kuglica, različite grupe se kombiniraju, a ponovno sastavljena mješavina ponovno se dijeli kako bi se formirale nove grupe



Primjeri kombinatornih sinteza prirodnih produkata

- **strategija za biblioteku spojeva sličnih eritromicinu A**
- **makrolidi** – važni antibiotici
- eritromicin-aldehid je sintetiziran iz 6-alileritromicina i spojen na Wangovu smolu s aminokiselinom koja definira R_1
- dvije uzastopne reduktivne aminacije daju R_2 i R_3 nakon čega je uslijedilo oslobađanje kiseline iz smole da bi se dobili produkti 5



Current Opinion in Chemical Biology

Reakcije bez otapala

Diplomski studij
Primijenjena kemija

Prof. dr. sc. M. Hranjec
Zagreb, studeni 2025.

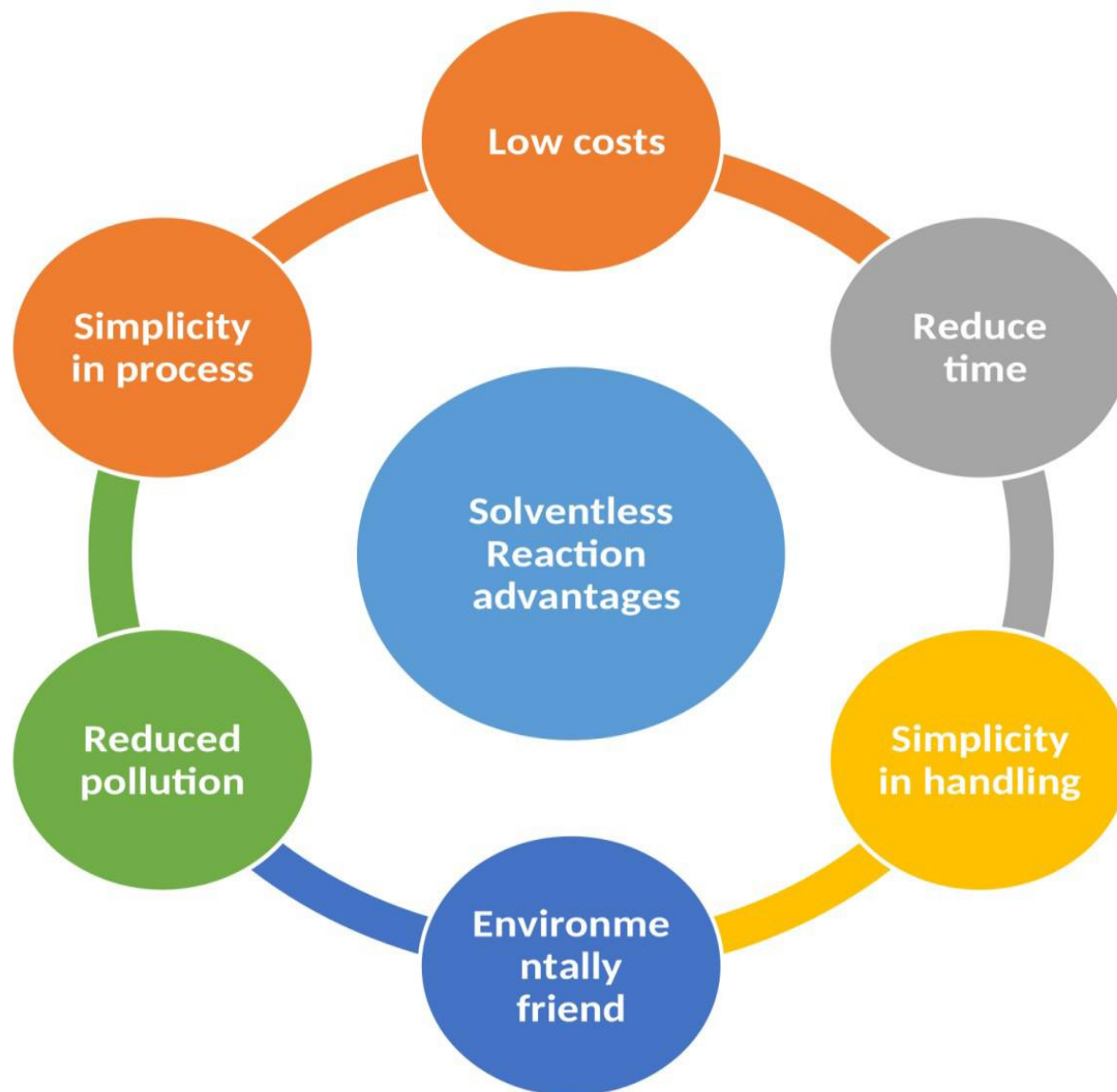
Reakcije bez otapala - solvent-free

- **zamjena postojećih organskih otapala s manje toksičnima**, poglavito vodom ili još bolje potpuno izbjegavanje rabljenja otapala - biotapala
- potpuno izuzimanje otapala u kemijskim reakcijama za ljude i okoliš je najpoželjnije, aspekt zelene kemije
- razvijene su **različite reakcije u čvrstom stanju** (solid state reactions) poput reakcija bez otapala aktiviranih mikrovalnim zračenjem i reakcija provedenih u tarioniku
- mehanokemijske reakcije pružaju jedan novi pristup "zelenoj" kemiji
- reakcije u čvrstom stanju ("solid-state reactions")

Razlozi razvoja reakcija bez otapala:

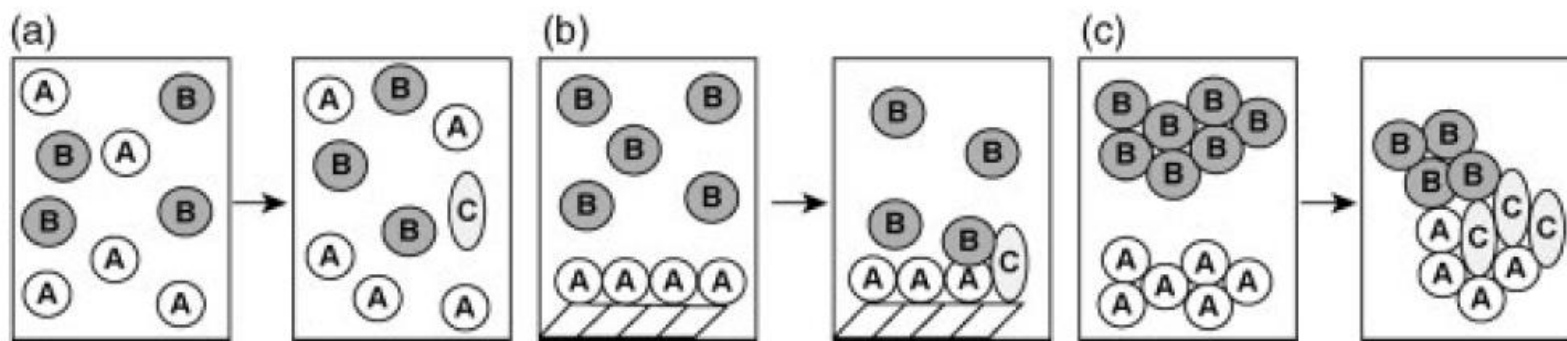
- ☐ ekonomski (ušteda novaca za otapala)
- ☐ jednostavnije pročišćavanje (nema uklanjanja otapala nakon sinteze)
- ☐ visoka iskorištenja (zbog visoke koncentracije reaktanata)
- ☐ ekološki prihvatljivo (otapalo nije potrebno)

Prednosti reakcija bez otapala



Vrste reakcija bez otapala

- kada se govori o reakcijama između krutina, potrebno je razlikovati “**solvent-free**” (reakcije bez otapala), “**solid-phase**” (reakcije na krutom nosaču) i “**solid-state**” reakcije (reakcije u krutom stanju)
- kruti nosači mogu biti polimerni materijali, zeoliti, grafit, mineralni oksidi (silikagel, aluminijev oksid)
- kod reakcija u krutom stanju reagiraju dvije krutine dajući produkt koji je također u krutom stanju



Solvent-free (a), solid-phase (b) and solid-state (c) reactions.

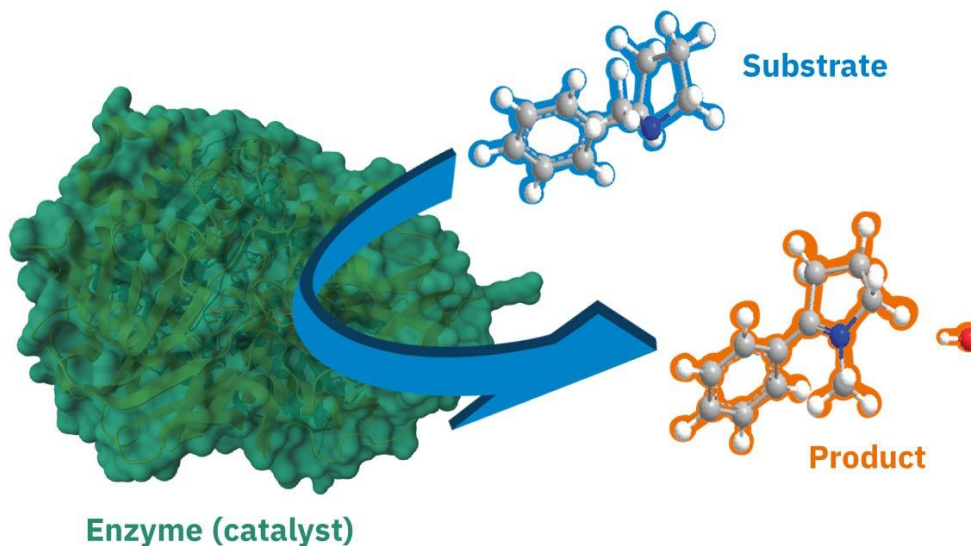
Bioenzimatske reakcije

Diplomski studij
Primijenjena kemija

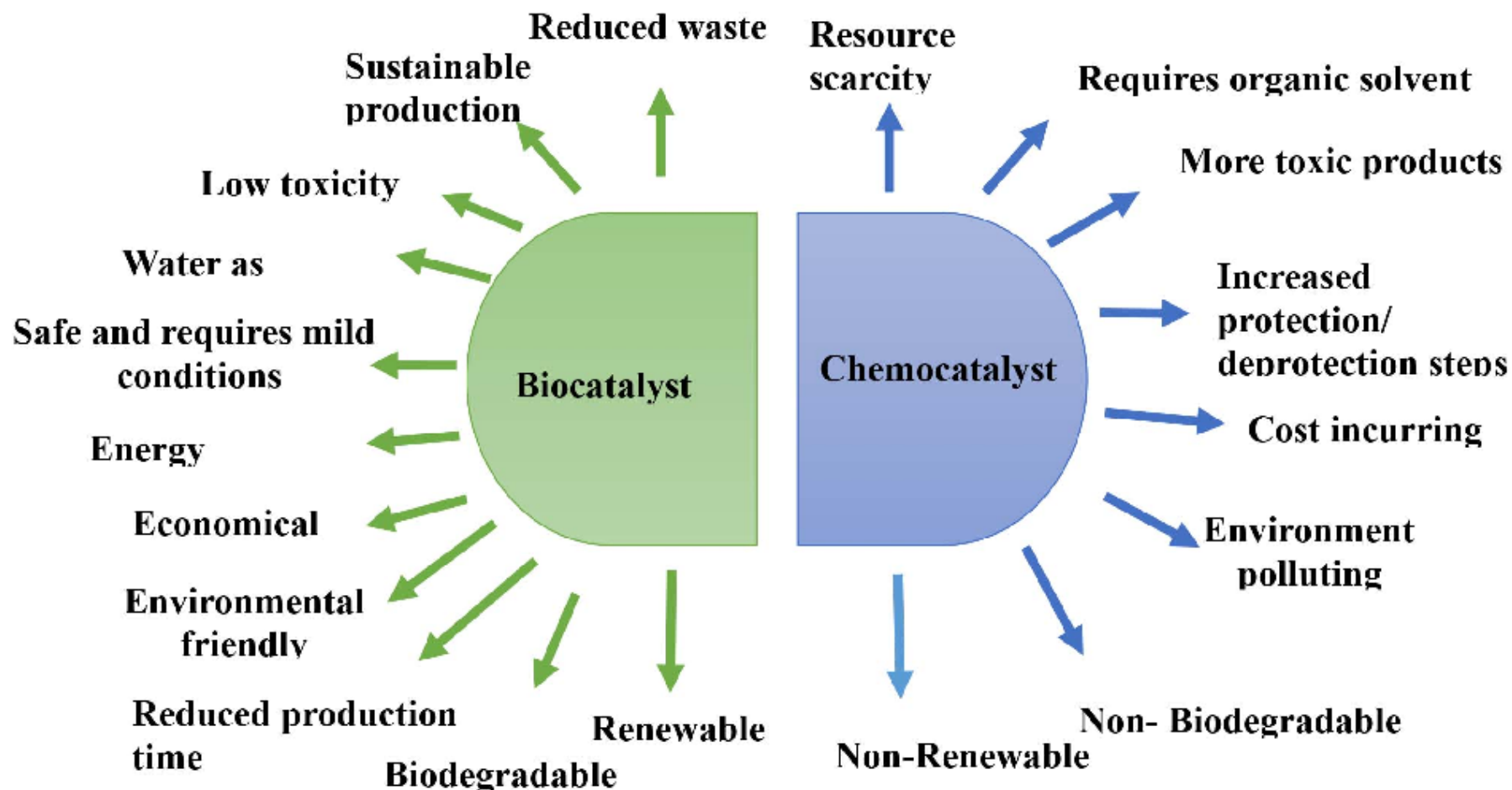
Prof. dr. sc. M. Hranjec
Zagreb, studeni 2025.

BIOKATALIZA

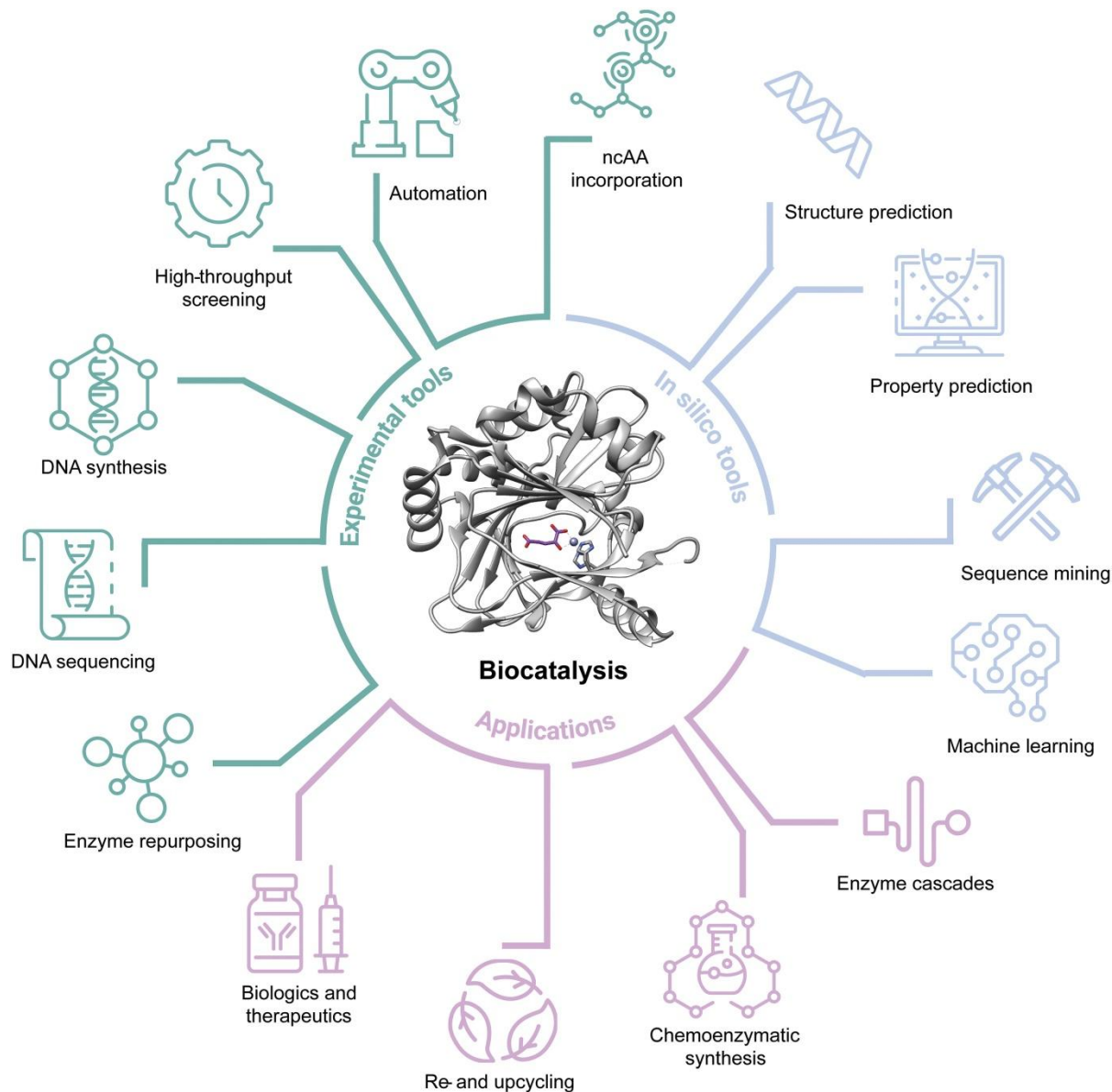
- **glavna prednost biokatalize – izvrsna selektivnost**
- **asimetrične reakcije iz prokiralnih spojeva daju spojeve u izvrsnom enantiomernom suvišku >99% e.e**
- **visoka enantioselektivnost**
- **izvrsna stereoselektivnost** u regio- i diastereoselektivnim enzimskim reakcijama
- **pH i temperatura enzimski katalizirane reakcije ograničavajući faktor** (za većinu enzima pH 6-10 i temp. 20–50° C)
- **preferirani medij za reakciju – vodena (puferska) otopina ili jednofazni ili dvofazni sustav voda –organsko otapalo**



PREDNOSTI BOKATALIZE NAD KEMOKATALIZOM



PRIMJENA BIOKATALIZE



IZVORI BIOKATALIZATORA

- pročišćeni enzimi ili liofilizirani sirovi stanični lizati često su dostupni za izravnu kupnju; **komercijalni izvori i kitovi**
- komercijalno proizvedeni enzimi mogu se pregledati u odnosu na specifične supstrate kako bi se identificirali kandidati za biokatalizatore
- mogućnost komercijalne sinteze gena znači da se, u načelu, **bilo koji enzim s poznatom sekvencom aminokiselina može dobiti sintezom gena**
- identifikacija enzima koji kataliziraju željene kemijske transformacije

a Commercial sources of biocatalysts

Chemical vendors

Purified enzymes, crude cell lysates



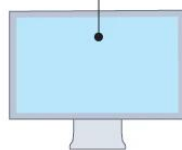
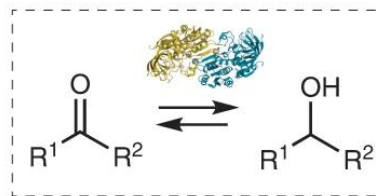
Enzyme libraries



Substrate specificity screening

Enzymes from the synthesized gene

Identifying enzymes → Gene synthesis → Protein expression



- SciFinder
- UniProt
- BioCatNet

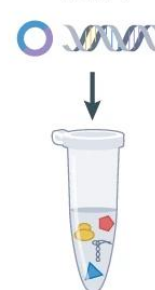


Transformed cell



Recombinant protein expression

DNA



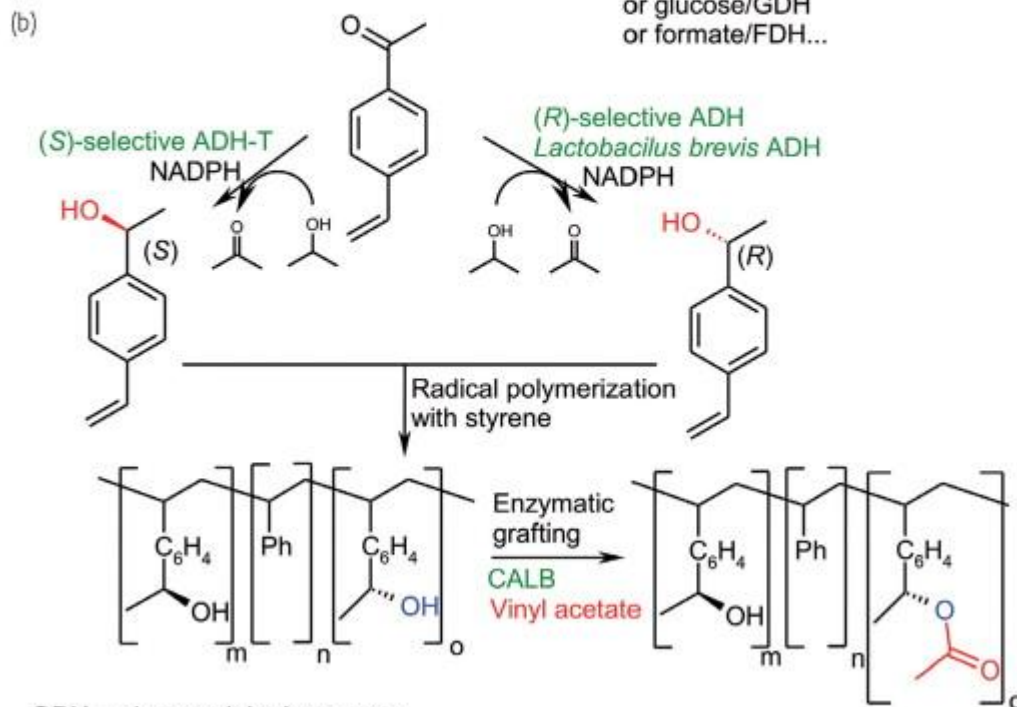
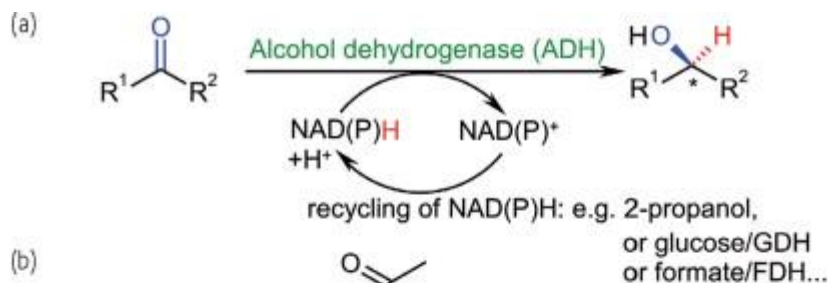
Cell-free protein synthesis

OSNOVNE SKUPINE ENZIMA

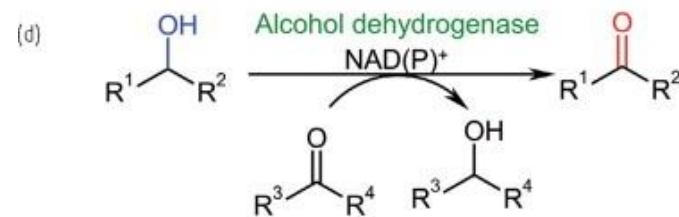
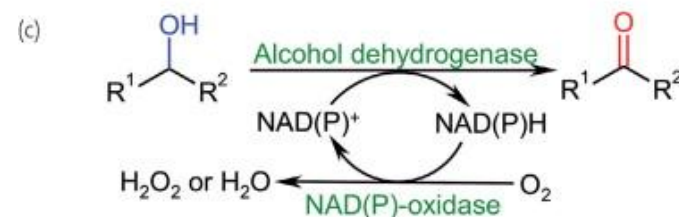
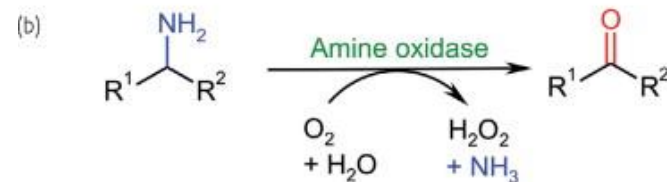
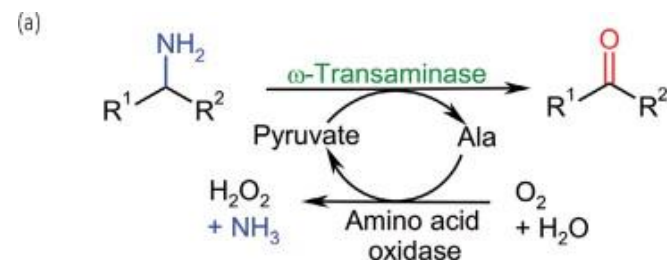
NAZIV	VRSTA REAKCIJE
oksidoreduktaza	oksidacija-redukcija
transferaze	prijenos skupina
hidrolaze	reakcije hidrolize (prijenos funkcionalne skupine na vodu)
liaze	adicija ili eliminacija skupina radi stvaranja dvostruke veze
izomeraze	izomerizacija (intramolekulski prijenos skupina)
ligaze	vezanje dvaju supstrata na teret hidrolize ATP

PRIMJERI BIOENZIMSKIH REAKCIJA

Različite vrste reakcija



GDH = glucose dehydrogenase
FDH = formate dehydrogenase
CALB = *Candida antarctica* lipase B



BIOKATALIZA

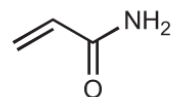
Primjeri produkata sintetiziranih biokatalizom

Factors that enable biocatalysis

- **Reaction design**
Manual, automatic
- **Choice of biocatalyst**
Genomic database, de novo design
- **Biocatalyst optimization**
Rational engineering, directed evolution
- **Bioprocess development**



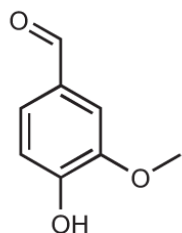
Materials
and polymers



Acrylamide



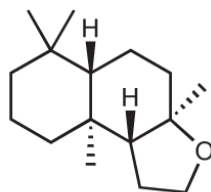
Fine
chemicals



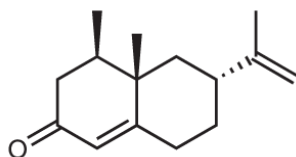
Vanillin



Fragrances
and flavours



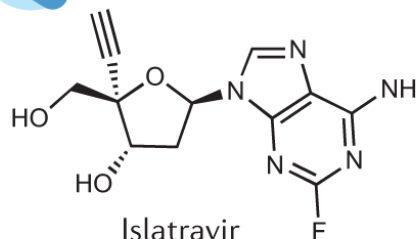
(-)-Ambrox
(fragrance
intermediate)



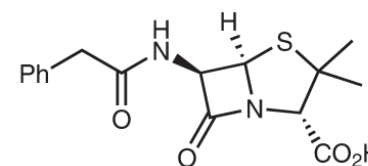
Nootkatone



Pharmaceuticals



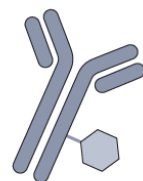
Islatravir



Penicillin G



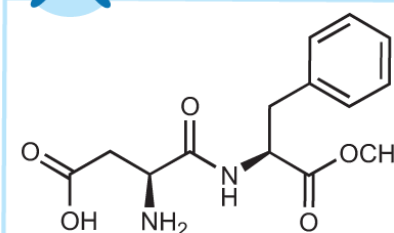
Biopharmaceuticals/
new modalities



Antibody–drug
conjugates



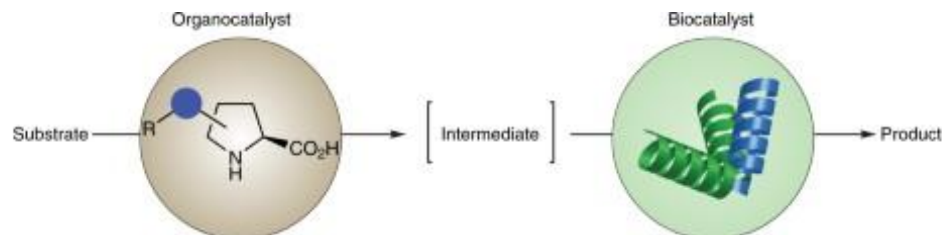
Food



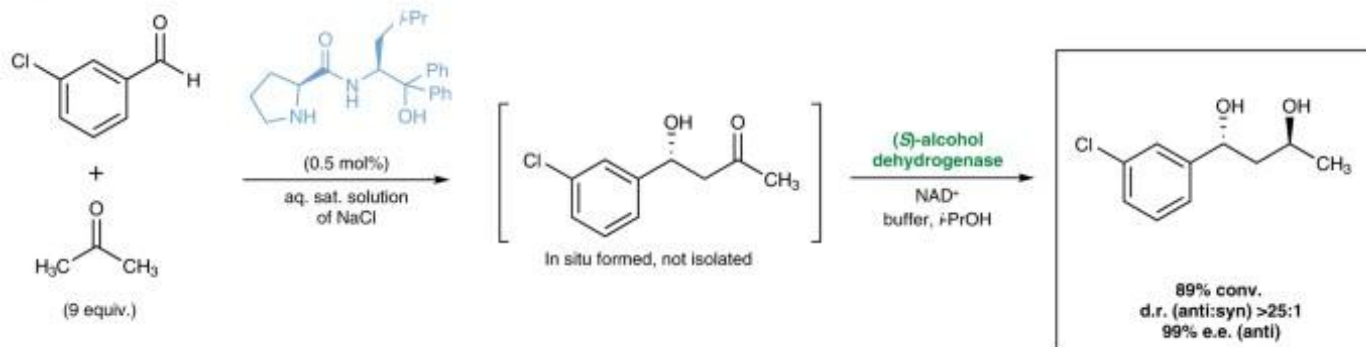
Aspartame

PRIMJERI BIOENZIMSKIH REAKCIJA

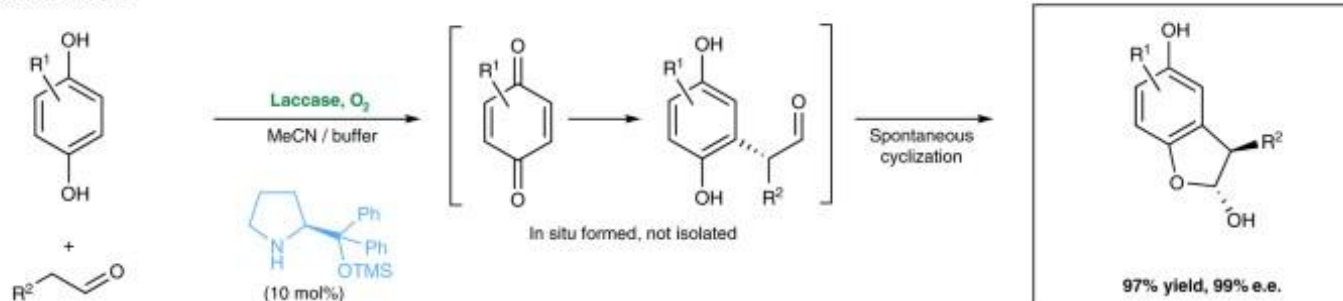
- a) sekvencijalna reakcija organokatalizatora i biokatalizatora za sintezu kiralnih diola; b) istovremena tandem ska reakcija posredovana lakazom i organokatalizatorom za sintezu 3-supstituiranih 2,3-dihidrobenzofuran-2,5-diola



a Sequential reaction



b Tandem reaction



PRIMJERI BIOENZIMSKIH REAKCIJA

- nova vrsta enzima – **amidna-ligaza**
- sinteza raznih amida iz karboksilnih kiselina i aminokiselina

